

ПРОБЛЕМИ ОРГАНІЗАЦІЇ ТА ЕКОНОМІКИ НЕФРОЛОГІЧНОЇ ДОПОМОГИ

ПРОТОКОЛ КОНТРОЛЮ ХІМІЧНОЇ ТА БАКТЕРІОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ ВОДИ ДЛЯ ГЕМОДІАЛІЗУ/ГЕМОДІАФІЛЬТРАЦІЇ Л.М. Снісар, Л.О. Ліксунова.	3
---	----------

ОРИГІНАЛЬНІ НАУКОВІ РОБОТИ

ОСОБЛИВОСТІ ПОКАЗНИКІВ ІМУНІТЕТУ У ХВОРИХ НА НЕПРОЛІФЕРАТИВНІ ФОРМИ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ В.Є. Дряньська, М.Б. Величко, О.П. Петрина, Т.В. Порошина, В.М. Непомнящий, Л.О. Ліксунова, Н. М. Малашевська.	10
--	-----------

ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ДОЗОЮ ТРИВАЛОГО АКТИВАТОРА РЕЦЕПТОРІВ ЕРИТРОПОЕТИНУ ТА ОКСИДАТИВНИМ СТРЕСОМ У ХВОРИХ, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ МЕТОДОМ ГЕМОДІАЛІЗУ Н. Степанова, Л. Король, В. Новаківський, М. Колесник.	18
---	-----------

АПОПТОЗ ЯК МЕХАНІЗМ ІНДУКОВАНОГО АЛЬБУМІНОМ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК ПРИ НЕФРОТИЧНОМУ СИНДРОМІ У ДІТЕЙ Є.А. Бурлака, І.В. Багдасарова.	25
--	-----------

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК У ДІТЕЙ, ЩО ПЕРЕНЕСЛИ ГОСТРЕ ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК, В КАТАМНЕЗІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ Лавренчук О. В., Багдасарова І. В., Пономарева М.А.	31
--	-----------

РІВЕНЬ ПРОЛАКТИНУ У ПАЦІЄНТІВ З ХХН V СТАДІЇ, ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ ГЕМОДІАЛІЗОМ І.О. Дудар, В.М. Савчук, О.М. Лобода, Ю.І. Гончар, І.М. Шіфріс, В.Ф. Крот.	38
--	-----------

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ У ПАЦІЄНТІВ З ПІЄЛОНЕФРИТОМ Л.В. Король, Н.М. Степанова, О.В. Лавренчук, Л.Я. Мигаль.	44
--	-----------

ШКОЛА НЕФРОЛОГА

ПІВІСТОРІЧЧЯ IGA НЕФРОПАТІЇ: ДОСЯГНЕННЯ, РОЗЧАРУВАННЯ ТА ПРОБЛЕМИ І. І. Лапчинська.	50
--	-----------

РЕДАКЦІЙНА ІНФОРМАЦІЯ

ІНФОРМАЦІЯ ДО ЧИТАЧІВ.	61
ПОВІДОМЛЕННЯ.	65



Державна установа «Інститут нефрології НАМН України»
Національний нирковий фонд України

ISSN 2304-0238
ISSN 2616-7352

УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ НЕФРОЛОГІЇ ТА ДІАЛІЗУ
НАУКОВО-ПРАКТИЧНИЙ, МЕДИЧНИЙ ЖУРНАЛ

№ 3 (59) 2018

Заснований 04.2004.

ВИХОДИТЬ 4 РАЗИ НА РІК

Головний редактор:	Колесник Микола Олексійович	
Заступник головного редактора:	Степанова Наталя Михайлівна	
Відповідальний секретар:	Козлюк Надія Іванівна	
Редакційна колегія:	Гуревич Костянтин Якович	Мартинюк Лілія Петрівна
	Драннік Георгій Миколайович	Томіліна Наталя Аркадієвна
	Дряньська Вікторія Євгенівна	Фоміна Світлана Петрівна
	Дудар Ірина Олексіївна	William G. Couser
	Зуб Лілія Олексіївна	R.T. Krediet
	Король Леся Вікторівна	F.P. Schena
	Лісовий Володимир Миколайович	Robert W. Schrier
	Майданнік Віталій Григорович	

Засновники – Державна установа «Інститут нефрології Національної академії медичних наук України»,
Національний нирковий фонд України

Свідоцтво про державну реєстрацію: КВ № 21397-11197 ПР від 25.01.2015 р.

Журнал внесено до переліку наукових фахових видань України (Наказ Міністерства освіти і науки України від 07.10.2015 № 1021)

Індексація журналу:

- web-платформа реєстраційної агенції Crossref (видавничий префікс: 10.31450),
- The Directory of Open Access Journals (DOAJ),
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD),
- загальнодержавний репозитарій Національна бібліотека України ім. В. І. Вернадського,
- пошукова система академічних текстів Google Scholar,
- Library catalog OCLC WorldCat.

Видається за наукової підтримки Державної установи «Інститут нефрології Національної академії медичних наук України»

Рекомендовано до друку Вченою радою Інституту нефрології НАМН України (протокол № 5 від 21.08.2018 р.)

Наклад 500 прим.

Адреса редакції: вул. Дегтярівська 17 В., м. Київ, 04050;
тел. 225 93 86; тел./факс: 225 93 87; e-mail: ukrjnd@gmail.com

Здано в набір 10.09.2018. **Підписано до друку** 30.09.2018
Формат паперу 64×90 1/8. Гарнітура НьютонС. Ум. друк. арк. 9,75. Замовлення № 300918

Друк ТОВ «Поліграф плюс»

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів видавничої справи
№ 5041 (серія ДК) від 26.01.2016 р.
03062, вул. Туполева, 8, Київ, тел./факс: (044) 466-14-42
e-mail: office@poligraph-plus.kiev.ua

Матеріали друкуються мовою оригіналу (українською, російською або англійською).
За достовірність і орфографію рекламної інформації відповідальність несе рекламодавець.

Редакція не завжди поділяє думки авторів публікацій.
Передрук публікацій здійснювати тільки за згодою редакції.

© «Український журнал нефрології та діалізу», 2018



Журнал розповсюджується за ліцензією CC Attribution-ShareAlike 4.0



State Institution “Institute of Nephrology NAMS of Ukraine”
National kidney foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238

ISSN 2616-7352

UKRAINIAN JOURNAL OF NEPHROLOGY AND DIALYSIS

PRACTICAL, SCIENTIFIC, MEDICAL JOURNAL

№ 3 (59) 2018

PUBLISHED 4 TIMES A YEAR

founded in 04.2004

Editor-in-chief:

Mykola Kolesnyk

Deputy Editor:

Natalia Stepanova

Executive secretary:

Nadia Kozlyuk

Editorial Board :

Konstantin Gurevich
Georgy Drannik
Victoria Driyanska
Iryna Dudar
Liliia Zub
Lesya Korol
Volodymyr Lisovyi
Vitaly Maidannyk

Lilia Martyniuk
Natalia Tomilina
Svitlana Fomina
William G. Couser
R.T. Krediet
F.P. Schena
Robert W. Schrier

Founders – State Institution “Institute of nephrology NAMSU”, National Kidney foundation of Ukraine

Certificate of registration: KB № 21397-11197 IIP from January 25, 2015

The Journal added to the List of scientific professional editions of Ukraine (Ministry of Education and Science of Ukraine of 07.10.2015 № 1021)

Journal indexing:

- Crossref Registration Agency (doi prefix 10.31450),
- The Directory of Open Access Journals (DOAJ),
- Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD),
- National repository Vernadsky National Library of Ukraine,
- Web search engine for academic publications Google Scholar,
- Library catalog OCLC WorldCat.

Published by scientific support of State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences»

Recommended for publication by Academic Council State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences» (protocol № 5 from August 8, 2018).

Edition 500 copies

Address: Degtiarivska str.17V, Kyiv, 04050; e-mail: ukrjnd@gmail.com
tel. 225 93 86; tel/fax: 225 93 87.

Put in a set September 10, 2018. **Signed to print** September 30, 2018.
Paper size 64x90 1/8. Headset NewtonC. conventionally printed sheets 8. Order № 240718

Print Ltd “Poligraf plus”

Certificate of registration in the state register of subjects of publishing №169 (series DK) from 07/04/2005
03062, Tupoleva str., 8, Kyiv, tel/ fax: (044) 466-14-42
e-mail: office@poligraph-plus.kiev.ua

Materials are published in original language
(Ukrainian, Russian or English).

For the accuracy and spelling of the advertising information the responsibility is on the advertiser.

Editorial office not always agrees with the authors.

Reprint of the publications is possible to carry out only for the agreement of editorial office

© Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis, 2018



The Journal is licensed by CC Attribution-ShareAlike 4.0 International



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Protocol

L. Snisar, L. Liksunova

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.01

Protocol of chemical and bacteriological safety control of water for hemodialysis / haemodiafiltration

State Institute «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences», Kyiv, Ukraine

Citation:

Snisar L., Liksunova L. Protocol of chemical and bacteriological safety control of water for hemodialysis / haemodiafiltration. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59): 3-9. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.01

Abstract. *Conducting hemodialysis / haemodiafiltration requires the presence of specially prepared water, which is the main component of the dialysing solution. The source of dialysis water is drinking (tap) water which is submitted to purification cascade that involves, among others, pressure driven membranes processes such as reverse osmosis (RO). Proper water treatment is not only a guarantee of the safety of the hemodialysis procedure, but also significantly affects the quality and life expectancy of patients.*

Therefore, the chemical and microbiological quality of the water used for dialysis is essential if an additional health risk to haemodialysis patients is to be avoided.

Key words: *dialysis water, hemodialysis, chemical quality, microbiological quality, contaminants, reverse osmosis.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© L. Snisar, L. Liksunova, 2018.

Correspondence should be addressed to Lyudmila Snisar: snisarlyudmyla@gmail.com

Article history:

Received 16 June 2018

Received in revised form

18 July 2018

Accepted 25 July 2018



© Снісар Л.М., Ліксунова Л.О., 2018

УДК:

Л.М. Снісар, Л.О. Ліксунова

Протокол контролю хімічної та бактеріологічної безпеки води для гемодіалізу/гемодіафільтрації

Державна установа «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ

Резюме: Проведення гемодіалізу / гемодіафільтрації вимагає наявності спеціально підготовленої води, яка є основним компонентом діалізуючого розчину. Джерелом води для діалізу є питна вода, що подається до каскаду очищення, та включає в себе, зокрема, процеси зворотного осмосу (ЗО). Належне очищення води є не лише запорукою безпечності процедури гемодіалізу, але й суттєво впливає на якість та тривалість життя пацієнтів.

Контроль хімічної та мікробіологічної якості води, що використовується для діалізу дозволяє уникнути додаткового ризику для пацієнтів, які лікується гемодіалізом / гемодіафільтрацією.

Ключові слова: вода для діалізу, гемодіаліз, хімічна якість, мікробіологічна якість, забруднюючі речовини, зворотний осмос.

A.1 ПАСПОРТНА ЧАСТИНА

A.1.1 Протокол може бути використаний лікувальними установами, які у своїй структурі мають центр нефрології та діалізу та надають медичну допомогу хворим на ХХН V Д ст.

A.1.2 Мета протоколу: стантартизувати контроль хімічної та бактеріологічної безпеки води для гемодіалізу / гемодіафільтрації.

A.1.3 Розробники:

Снісар Л.М. к.м.н., старший науковий співробітник відділу нефрології та діалізу ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

Ліксунова Л.О. к.м.н., головний лікар ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

A.2 ПРОТОКОЛ КОНТРОЛЮ ХІМІЧНОЇ ТА БАКТЕРІОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ ВОДИ ДЛЯ ГЕМОДІАЛІЗУ / ГЕМОДІАФІЛЬТРАЦІЇ

Положення протоколу	Обґрунтування	Необхідні дії
I. Профілактика		
Проведення гемодіалізу вимагає наявності спеціальним чином підготованої води, яка є основним компонентом діалізуючого розчину. Належне очищення води є не лише запорукою безпечності процедури гемодіалізу, але й суттєво впливає на якість та тривалість життя пацієнтів.	<i>Первинна профілактика:</i> для проведення гемодіалізу повинна використовуватися очищена вода, яка як мінімум, відповідає європейським стандартам якості води для гемодіалізу. <i>Вторинна профілактика:</i> контроль якості води для гемодіалізу відповідно стандартів.	Обов'язкові: 1. Наявність системи водопідготовки. 2. Наявність планового контролю якості води відповідно протоколу. 3. Наявність форми контролю результатів у кожному діалізному центрі. 4. Проведення регламентних робіт відповідно рекомендацій виробника. 5. Наявність алгоритму дій у разі встановлення невідповідності якості води для діалізу зазначеним стандартам.

Снісар Людмила Миколаївна
snisarlyudmyla@gmail.com

II. Діагностика		
Об'єм контролю якості води визначається цим протоколом та здійснюється в центрі нефрології та діалізу.	Докази свідчать, що своєчасний та адекватний моніторинг якості води зменшує кількість ускладнень та збільшує тривалість і якість життя у хворих на ХХН V Д.	Обов'язкові: 1. Система водопідготовки повинна складатись з блоку попереднього очищення та блоку зворотного осмосу (ЗО). 2. Система водопідготовки може містити ємкості для зберігання очищеної води. 3. Система відводу води від блоку очищення до діалізних апаратів має бути виконана з матеріалу, який попереджує бактеріальну контамінацію та дозволяє проводити дезінфекцію.
III. Лікування		
Контроль якості води здійснюється відповідно до протоколу. У разі виникнення погіршення якості водопровідної води, розгерметизації системи відведення води від системи водоочищення та у разі заміни одного з компонентів системи очищення води, контроль якості води проводиться позачергово.	Своєчасний контроль та моніторинг якості води для гемодіалізу забезпечує більшу тривалість та кращу якість життя.	Обов'язкові: 1. Контроль мікробіологічної та хімічної безпеки води для гемодіалізу проводиться у повному обсязі з відповідною частотою (таб. 1,2). 2. Вміст КУО в 1 мл <100, вміст ендотоксину <0,25 МО/мл. 3. Контроль попереднього очищення води виконується щоденно перед початком діалізу шляхом вимірювання концентрації хлору у воді після вугільного фільтру та жорсткості води після пом'якшувача (<1мг/л). 4. Ефективність роботи системи зворотного осмосу оцінюється щоденно шляхом визначення кондуктивності (максимально допустимі значення для ГД/ГДФ до 30 мкСм/см). 5. У разі невідповідності якості води зазначеним параметрам води для гемодіалізу, гемодіаліз не проводиться та приймаються відповідні заходи для усунення причин. Бажані: 6. Кондуктивність перміату 7-10 мкСм/см. 7. Вміст КУО в 1 мл <0,1, вміст ендотоксину <0,03 МО/мл.

Таблиця 1

Максимально допустимі концентрації хімічних елементів у воді для діалізу та частота їх дослідження

Контамінант	Мах. концентрація (мг/л)	Частота досліджень*
Токсичні контамінанти		
Алюміній	0,01	1р/рік
Загальний хлор	0,1	Щоденно
Мідь	0,1	1 р/рік
Фторид	0,2	1р/рік
Свинець	0,005	1р/рік
Нітрати (азот)	2	1 р/рік
Сульфати	100	1 р/рік
Цинк	0,1	1 р/рік

Продовження таблиці 1

Контамінант	Мах. концентрація (мг/л)	Частота досліджень*
Електроліти		
Кальцій	2 (0,05 ммоль/л)	Щоденно
Магній	4 (0,15 ммоль/л)	Щоденно
Калій	8 (0,2 ммоль/л)	Щоденно
Натрій	70 (3,0 ммоль/л)	Щоденно
Хімічні елементи з низькою концентрацією		
Сурма	0,006	1 р/рік
Миш'як	0,005	1 р/рік
Барій	0,1	1 р/рік
Берилій	0,0004	1 р/рік
Кадмій	0,001	1 р/рік
Хром	0,014	1 р/рік
Ртуть	0,0002	1 р/рік
Селен	0,09	1 р/рік
Срібло	0,005	1 р/рік
Талій	0,002	1 р/рік

*- Після початку експлуатації системи водопідготовки, після ремонтних та щорічних регламентних робіт контроль виконується щомісяця впродовж 3-х міс.

Таблиця 2

Рівні мікробіологічної чистоти води для ГД/ГДФ

Показник чистоти	Європейська Фармакопея	
	Очищена вода	Ультрочищена вода
Мікробна контамінація (колоній утворюючих одиниць/мл)	<100	<0,1
Бактеріальні ендотоксини (міжнародних одиниць/мл)	<0,25	<0,03

ДОДАТОК 1

Правила відбору проб води для лабораторних досліджень.

Відбір виконується з дотриманням правил відбору, зберігання і транспортування.

Посуд для відбору проби має бути чистим і забезпечувати зберігання складу і властивостей відібраної проби при транспортуванні.

Головні вимоги до посуду:

- використовують скляний або поліетиленовий посуд ємністю 1-1,5 л (для розширеного аналізу до 3 л)
- посуд та кришки попередньо ретельно мють, бажано в гарячому мильному розчині (пральні порошки та хромову суміш не можна використовувати!) і багаторазово ополіскують чистою теплою водою
- для мікробіологічного аналізу використовують тільки стерильний посуд, а відбір проби проводять в стерильних рукавичках, або продезінфікованими руками.
- перед відбором проби посуд ополіскують не менше трьох раз тією ж водою, з якої береться проба
- посуд, після відбору проби, має бути промаркований етикеткою, де слід вказати хто

замовник, місце відбору, дата і час відбору, кількість і додаткові записи.

Загальні вимоги до відбору проб води, зберігання і транспортування.

1. З кранів забір води здійснюють після вільного випуску води при повному відкритті крану впродовж 60 сек. (вода повинна повільно стікати по стінках ємності).
2. При відборі проби з одного і того ж місця забору для різних аналізів першими відбирають проби для мікробіологічного аналізу.
3. Для отримання достовірних результатів аналіз води слід виконувати, по можливості, якнайшвидше, бажано до 6 годин після забору проби. Якщо в день забору проби аналіз не можливо виконати, то проби води рекомендується зберігати в холодильнику не більше 48 годин.
4. Залежно від передбачуваної тривалості зберігання відібраних проб може виникнути необхідність в їх консервації.
5. Для транспортування бажано охолодити проби до температури 2-5 С. Під час транспортуванні ємності з пробою мають бути захищені від забруднення, ушкодження та самовільного відкриття пробок.

Алгоритм хімічного контролю води для ГД/ГДФ;**виконавець – технік**

Крок 1.	Відбір зразків води. Примітка 1. Проводиться перед дезінфекцією шафи ЗО та дистального сегменту петлі. Примітка 2. Проводиться відповідно дод. 1	
1.1		Перший зразок води повинен бути відібраний перед першим фільтром очистки води (водопровідна вода).
1.2		Другий зразок води повинен бути відібраний з дистального сегменту петлі, безпосередньо перед тим, як вода повертається до ЗО, або безпосередньо перед тим, як вода повторно надходить у резервуар для зберігання, якщо такий є.
Крок 2.	Направлення зразків води до лабораторії та реєстрація у журналі отриманих результатів*	
2.1	Оцінка результатів	
2.2	Жодна з хімічних складових не перевищує допустимих меж концентрації - виконується тестування відповідно таб. 1.	
2.3	У разі перевищення допустимих меж концентрації хімічних складових виконуються коригувальні заходи (перейдіть до кроку 3).	
Крок 3.	Корекція встановлених порушень	
3.1	Концентрація хімічних речовин перевищена в 1-му зразку, повторіть його негайно (повторіть кроки 1.1-3.1)	
3.2	Концентрація хімічних речовин перевищена в 2-му зразку (або в обох) :	
	3.2.1	Зібрати та перевірити зразки з інших частин петлі (після пом'якшувача, після зворотного осмосу, на вході у водогін, на вході до діалізного апарату). <ul style="list-style-type: none"> • Оцінка / корекція методики забору зразків. • Оцінка / правильне дотримання процедур дезінфекції. • Оцінка / корегування компонентів системи води.
	3.2.2	Якщо необхідно, вимкніть шафу ЗО, зареєструйте подію в протоколі, зверніться до служби сервісу.
	3.2.3	Повідомте про це завідувача відділення та чергового нефролога.
	3.2.4	Перезапустіть систему водопідготовки (повторіть кроки з 1 до 3.1).

* Всі результати хімічних аналізів води для ГД/ГДФ, які отримані з лабораторії, повинні бути задокументовані техніком в журналі. У разі наявності порушень, черговий нефролог доповідає завідувачу відділення. Завідувач відділення підписує та аналізує отримані результати.

Алгоритм мікробіологічного контролю води для ГД/ГДФ

Крок 1.	Відбір зразків води. Примітка: Зразки слід завжди відбирати перед дезінфекцією шафи ЗО та дистального сегменту петлі.
1.1	Перший зразок води повинен бути відібраний перед першим фільтром очистки води (водопровідна вода).
1.2	Другий зразок води повинен бути відібраний з дистального сегменту петлі, безпосередньо перед тим, як вода повертається до ЗО, або безпосередньо перед тим, як вода повторно надходить у резервуар для зберігання, якщо такий є.
1.3	Зразки відбираються після вільного випуску води при повному відкритті крану впродовж 60 сек.
1.4	Кранів не слід дезінфікувати.
1.5	Кількість води, яка необхідна для мікробіологічного аналізу, визначається лабораторією, що проводить аналіз.
1.6	На ємкості зазначається місце, дата, час забору води.

Продовження таблиці

Крок 2.	Направлення зразків води в мікробіологічну лабораторію та реєстрація у журналі отриманих результатів*	
2.1	Оцінка отриманих результатів.	
2.2	Мікробна контамінація не перевищує рівня 50 КУО/мл - виконується мікробіологічне дослідження 1р/міс. відповідно таб. 2. (після установки системи, ремонтних та щорічних регламентних робіт щотижня впродовж 1 місяця).	
2.3	У разі перевищення допустимих меж мікробної контамінації виконуються коригувальні заходи (перейдіть до кроку 3).	
Крок 3.	Корекція встановлених порушень	
3.1	Кількість КУО перевищена в 1-му зразку, повторіть його негайно (повторіть кроки 1.1-3.1)	
3.2	Кількість КУО перевищена в 2-му зразку (або в обох) :	
	3.2.1	Мікробна контамінація перевищує 100 КУО/мл, організуйте екстрену дезінфекцію (впродовж 24 годин), використовуючи оцтову кислоту та повідомте про це завідувача відділення та чергового нефролога. Зареєструйте подію у відповідному протоколі.
	3.2.2	Зібрати та перевірити зразки з інших частин петлі (після пом'якшувача, після зворотного осмосу, на вході у водогін, на вході до діалізного апарату, на виході з апарату). <ul style="list-style-type: none"> • Оцінка / корекція методики забору зразків. • Оцінка / правильне дотримання процедур дезінфекції. • Оцінка / корегування компонентів системи води. • Оцінка мікробіологічних даних за попередні 3 місяці
	3.2.3	Повторіть кроки з 1 до 3.1.

Журнал отриманих результатів

Збір даних / щоденний звіт				Рік: _____			
				Календарний тиждень: _____			
День тижня	Пн	Вт	Ср	Чт	Пт	Сб	Нд
Час							
	Записи (технік)						Одиниці
Кондуктивність перміату							мкСм/см
Температура перміату							°С
Калій							ммоль/л
Магній							ммоль/л
Кальцій							ммоль/л
Натрій							ммоль/л
Підпис Технік: Черговий нефролог:							

Збір даних / щомісячний звіт				Рік: _____									
				Місяць: _____									
Місяць	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
	Записи (технік)											Одиниці	
Мікробна контамінація													КУО/мл
Бактеріальні ендотоксини													МО/мл
Підпис: Технік Зав. від.													

Збір даних / щорічний звіт								
Рік:								
	Записи (технік)							Одиниці
Алюміній								мг/л
Загальний хлор								мг/л
Мідь								мг/л
Фторид								мг/л
Свинець								мг/л
Нітрати (азот)								мг/л
Сульфати								мг/л
Цинк								мг/л
Підпис: Технік Зав. відділення								

Література (References):

1. *Kolesnyk M, Dudar I, Stepanova N, Gonchar Y, Shifris I, Loboda O.* Adaptovana klinichna nastanova, zasnovana na dokasah ta unifikovani klinichni protocol. Licuvannia hvoryh na hronichnu hvorobu nyrok V GD stadii: 2016 rik. Kyiv; 2016. 228 p. [In Ukrainian].
2. Water for haemodialysis and related therapies. CAN/CSA-ISO 13959-11. Canadian Standards Association; 2011. Available from: <http://www.bcrenalagency.ca>
3. Dialysate for hemodialysis. ANSI/AAMI RD52:2004/(R)2010, Association for the Advancement for Medical Instrumentation, Arlington (VA); 2009. 54 p. Available from: http://www.therenalnetwork.org/home/resources/CfC/AAMI_RD520408.pdf
4. Water for haemodialysis and related therapies. BS EN ISO 13959; 2015. 16 p. Available from: <https://shop.bsigroup.com/ProductDetail>
5. Concentrates for haemodialysis and related therapies. BS EN ISO 13958:2015. Available from: www.iso.org
6. Quality of dialysis fluid for haemodialysis and related therapies. BS EN ISO 11663: 2015. Available from: www.iso.org
7. Water treatment equipment for haemodialysis and related therapies. BS EN ISO 26722: 2015. Available from: www.iso.org
8. Guidance for the preparation and quality management of fluids for haemodialysis. BS EN ISO 23500: 2015. Available from: www.iso.org
9. *Uhlig K, MacLeod A, Craig J.* Grading evidence and recommendations for clinical practice guidelines in nephrology. A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2006; 70: 2058-65.
10. *Atkins D, Best D, Briss PA.* GRADE Working Group. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ.* 2004;328:1490.
11. Water Quality Standard. ANSI/AAMI 13959:2014. Available from: www.iso.org
12. *Levy J, Morgan J.* Oxford Handbook of Dialysis. Oxford, Oxford University Press. 2004. Available from: <https://www.amazon.com/Oxford-Handbook-Dialysis-Medical-Handbooks/dp/0199235287>
13. *Poli D, Pavone L, Tansinda P.* Organic contamination in dialysis water: trichloroethylene as a model compound. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006; 21(6): 1618-25. doi.org/10.1093/ndt/gfl036
14. *Tattersall J, Martin-Malo A, Pedrini L, Basci A, Canaud B, Fouque D, Haage P, Konner K, Kooman J, et al.* EBPG guideline on dialysis strategies, Nephrology Dialysis Transplantation. 2007;22(2):ii5–ii21. doi: 10.1093/ndt/gfm022
15. *Kooman J, Basci A, Pizzarelli F, Canaud B, Haage P, Fouque D, Konner K, Martin-Malo A, Pedrini L, Tattersall J, et al.* EBPG guideline on haemodynamic instability / *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007; 22(2):ii22-44.
16. *Cornelis T, Menno P, Kooistra Jeroen Kooman Karel M, Leunissen Christopher T, Chan Frank M.* Education of ESRD patients on dialysis modality selection: 'intensive haemodialysis first'. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2010; 25(9): 3129-30. doi: 10.1093/ndt/gfq365



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

V. Driianska, M. Velychko, O. Petrina, T. Poroshina, V. Nepomnyaschii, L. Liksunova, N. Malashevskaya

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.02

Peculiarities of some immunity indicators in patients with nonproliferative forms of chronic glomerulonephritis and nephrotic syndrome

SI «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine

Citation:

Driianska V, Velychko M, Petrina O, Poroshina T, Nepomnyaschii V, Liksunova L, Malashevskaya N. Peculiarities of some immunity indicators in patients with nonproliferative forms of chronic glomerulonephritis and nephrotic syndrome. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):10-17. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.02

Abstract. *The aim of our work was to determine the peculiarities of human leukocyte antigen (HLA) cytokines and factors of endothelial dysfunction in the blood of patients with nonproliferative forms (NP) of chronic glomerulonephritis (CGN) and nephrotic syndrome (NS).*

Methods. *The distribution of HLA-antigens by identification of lymphocytes using of the common microlymphocyte toxic test (Terasaki) was studied in 264 patients with CGN, NS and 350 healthy donors. Among the examined patients were 96 subjects with MP GN. The diagnosis was confirmed morphologically using the thin needle nephrobiopsy. The immuno-enzymic method ELISA was used to study the levels of cytokines and the factors of endothelial dysfunction in blood of 110 patients.*

Results. *We obtained a high relative risk (RR > 2) for CGN, NS at the presence of HLA-A23, 24, 28, B8, 38, 41, 44 in phenotype (for NP + A30), the causal role in etiopathology ($\sigma > 0.1$) is indicated for A24, 28; B8 (NP + A19+31+32). The disease protectors are B12 and B16 (NP + A9). The association of some antigens with development of various morphologic forms of GN was determined.*

Moreover, we found a statistically high levels of pro-inflammatory cytokines (tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-17, monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)), anti-inflammatory cytokines (IL-4, transforming growth factor β) and factors of endothelial dysfunction (vascular endothelial growth factor (VEGF), soluble vascular cell adhesion molecule-1) in the patients with NP GN compared to healthy donors. The MCP-1 levels in the patients with proliferative GN are reliably higher than in NP patients.

No statistically significant dynamics of cytokines level in the patients with NP GN was revealed (exclude the level of TNF- α) after the treatment. But, the positive treatment effect was associated with the statistically decreased of TNF- α , MCP-1 and VEGF.

Our results suggest that HLA-antigens and other indicators of immunity (TNF α , MCP-1 and VEGF) can be used as the additional prognostic markers in the patients with GN and NS.

Key words: *chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome, nonproliferative forms, HLA-phenotype, cytokines.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© V. Driianska, M. Velychko, O. Petrina, T. Poroshina, V. Nepomnyaschii, L. Liksunova, N. Malashevskaya, 2018.

Correspondence should be addressed to Victoria Driianska: kirin@inephrology.kiev.ua

Article history:

Received 17 August 2018

Received in revised form
21 August 2018

Accepted 9 September 2018



© Дріянська В. Є., Величко М. Б., Петрина О. П., Порошина Т.В., Непомнящий В.М., Ліксунова Л.О., Малашевська Н. М., 2018

УДК 616.611-002-036.12-07:615.37

**В.Є. Дріянська, М.Б. Величко, О.П. Петрина, Т.В. Порошина, В.М. Непомнящий,
Л.О. Ліксунова, Н. М. Малашевська**

Особливості показників імунітету у хворих на непроліферативні форми хронічного гломерулонефриту

ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ, Україна

Резюме. *Мета роботи:* визначити особливості HLA-фенотипів та показників цитокінової ланки імунітету з факторами ендотеліальної дисфункції у хворих на непроліферативні (НП) форми хронічного гломерулонефриту (ХГН) з нефротичним синдромом (НС).

Матеріал та методи. Вивчали розподіл HLA-антигенів за допомогою мікролімфоцитотоксичного тесту Тerasaki у 264 хворих на ХГН, НС (серед яких аналізували дані 96 з НП ГН) та 350 здорових донорів. Морфологічний діагноз був підтверджений методом тонкоїгольної нефробиопсії. Для вивчення рівнів цитокінів та факторів ендотеліальної дисфункції в крові 110 пацієнтів використовували імуноферментний аналіз.

Результати. Для ХГН, НС відносний ризик високий ($RR > 2$) за наявності HLA-A23, 24, 28, B8, 38, 41, 44 (у хворих на НП ГН +A30), причинна роль ($\sigma > 0.1$) показана для A24, 28, B8 (НП +A19+31+32); протекторами захворювання є B12 та B16 (НП +A9). Виявлені антигени-провокатори різних морфологічних форм ХГН.

У пацієнтів з НП ГН виявлено в крові високі рівні як про- (трансформуючий фактор росту альфа (TNF- α), інтерлейкіну 17 (IL-17), моноцитарний хемоатрактантний протеїн 1 (MCP-1)), так і протизапальних (IL-4, трансформуючий фактор росту бета (TGF- β)) цитокінів, факторів ендотеліальної дисфункції (фактор росту ендотелію судин (VEGF), розчинна молекула адгезії судинних клітин (sVCAM-1)) та зниження E-селектину. Рівень MCP-1 у хворих на проліферативні ГН був вищим, ніж у разі непроліферативних форм.

Не виявлено достовірних змін цих показників імунітету в групі хворих на НП ГН після проведеного лікування, за винятком зниження TNF- α ($p = 0,001$), але позитивний ефект лікування асоціював з достовірним зниженням концентрацій MCP-1 ($p = 0,005$) і VEGF ($p = 0,028$).

Висновки. Виявлені достовірні асоціації HLA з ХГН, НС та його непроліферативними морфологічними формами дозволяють вважати такі антигени в фенотипі пацієнтів та інші показники імунітету ((TNF- α , MCP-1 і VEGF) додатковими прогностичними маркерами.

Ключові слова: хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром, непроліферативні форми, HLA-фенотип, цитокіни.

Вступ. Визначення імунних механізмів розвитку патології нирок є актуальним та має важливу практичну спрямованість [1-4]. На сучасному етапі великий інтерес викликають питання генетичної детермінованості патологій, в тому числі гломерулонефритів (ГН), а також стан цитокінової ланки імунітету [5-6].

Відомо, що здатність імунної системи реагувати на антиген генетично контролюється і важливе місце у формуванні імунної відповіді займають гени головного комплексу гістосумісності – human leucocyte antigens (HLA) [7]. Регуляція імунної відповіді на його початкових та продуктивних етапах є однією з головних фізіологічних функцій системи HLA. Пошук генетичних основ схильності до захворювань дозволив розкрити деякі механізми, які

пояснюють зв'язок HLA з захворюваннями через їх вплив на імунну систему, в тому числі цитокінову ланку [8, 9]. Це надало можливість розробити нові методи профілактики та лікування багатьох захворювань.

Важливу роль в розвитку та прогресуванні захворювань нирок грають прозапальні цитокіни, що продукуються, головним чином, моноцитами/макрофагами (TNF- α , IL-18, MCP-1) і Т-хелперами 17 (IL-17), а також протизапальні медіатори (IL-4, TGF- β), фактори ендотеліальної дисфункції [2, 10, 11].

Мета роботи: визначити особливості HLA-фенотипів та показників цитокінової ланки імунітету з факторами ендотеліальної дисфункції у хворих на непроліферативні форми хронічного гломерулонефриту з нефротичним синдромом (ХГН, НС).

Матеріали і методи. Досліджували HLA-фенотипи у 264 хворих на ХГН, НС I-II ст., серед яких аналізували дані 110 пацієнтів з підтвердженим нефробиопсією діагнозом фокального сегментарного гломерулосклерозу (ФСГС), первинної мембранозної нефропатії (МН), хвороби мінімаль-

Дріянська Вікторія Євгенівна
victoriadriyanskaya@gmail.com

них змін (ХМЗ). Групу порівняння склали 350 здорових донорів – мешканців м. Києва.

Пацієнти були обстежені загальноприйнятими для нефрологічної практики лабораторними і інструментальними методами. Клінічний діагноз встановлювали на основі анамнезу, даних об'єктивного обстеження, даних лабораторних і інструментальних досліджень: загального аналізу крові, сечі, добової протеїнурії, біохімічного дослідження крові з визначенням вмісту сечовини, креатиніну, загального білка, альбуміну, АЛТ, АСТ, білірубину, холестерину, УЗД нирок, патоморфологічних досліджень нефробиопатів.

Всім хворим з НС та морфологічно встановленим типом гломерулонефриту була призначена імунотропна терапія згідно Протоколів лікування хворих на ХГН, НС. Преднізолон призначали у дозі 1 мг/кг/добу протягом 4 тижнів, надалі дозу преднізолону поступово зменшували до 0,5 мг/кг/добу, а за наявності гормонорезистентності (ГР) повністю відміняли, чи зменшували дозу і поєднували з цитостатиками. Застосовували пульс-терапію циклофосфаном з розрахунку 0,75 г/м² площі поверхні тіла 1 раз на місяць протягом 6 місяців. Пацієнтам, що були резистентними до терапії циклофосфаном, або за наявності ускладнень даної терапії, застосовували селл-септ чи сандімун.

Імунологічне обстеження пацієнтів проводили до початку імунотропної терапії та визначали динаміку цитокінів після 12 тижнів її першого курсу, паралельно оцінюючи результати лікування - гормончутливість, - резистентність, торпідний перебіг (без ефекту).

HLA-антигени визначали за допомогою стандартного мікролімфоцитотоксичного тесту на планшетах Тerasaki з застосуванням спеціальної панелі анти-HLA сироваток (20 антигенів локусу А, 31 – з локусу В і 9 – з локусу DR). Лімфоцити, що підлягали типуванню, виділяли з гепаринізованої периферичної крові шляхом центрифугування у градієнті щільності фікол-верографіна.

Рівень про (TNF α , IL-17, MCP-1) і протизапальних (IL-4, TGF- β) цитокінів, судинного ендотеліального фактору росту (VEGF), розчинних молекул судинної адгезії (sVCAM-1) та E-селектинів в сироватці крові визначали у 110 хворих за допомогою ІФА на аналізаторі «SunRise TouchScreen», використовували тест-системи «Diacclone» (Франція), DRG (Німеччина) та «Вектор Бест» (Росія), референтний діапазон - у 25 здорових донорів.

Достовірність різниці частоти HLA-антигенів оцінювали за допомогою критерію χ^2 -квадрат для таблиць 2x2. У випадках, коли один з показників був менше 10, для оцінки достовірності різниці використовували точний метод Фішера.

Величину відносного ризику захворювання (RR) визначали за коефіцієнтом: $RR = ab/vg$, де а - кількість хворих, позитивних за даним антигеном (Ag), б – кількість осіб контролю, негативних за

даним антигеном, в – кількість хворих, негативних за даним антигеном, г – кількість осіб у контролі, позитивних за даним антигеном. При цьому значимими вважали показники $RR > 2,0$ [7].

Етіологічну фракцію (атрибутивний ризик, σ) підраховували за формулою: $\sigma = x - y/1 - y$, де x – частота антигену у хворих, а y – частота у здорових. Даний показник дозволяє об'єктивно оцінити причинну роль у етіопатогенезі захворювання одного з декількох антигенів-провокаторів, для яких $RR > 2,0$, і достовірним вважали показник $\sigma \geq 0,1$ [7].

Результати. Дослідження виявили, що у хворих на ХГН, НС (264), в порівнянні з групою здорових осіб (350), $RR > 2$ був для антигенів: А23 з $RR = 3,48$, А24 з $RR = 2,27$, А28 з $RR = 2,05$, А29 з $RR = 7,72$, А30 з $RR = 5,85$. Антигени А24 та А28 з $\sigma = 0,1$ ($p = 0,005$ та $p = 0,009$) складають етіологічну фракцію розвитку ХГН, НС. HLA-A9 в групі хворих зустрічався достовірно рідше, ніж у здорових ($p = 0,005$), можливо за рахунок кращої виявляємості його окремих складових (А23 і А24), що обумовлювали відносний, а А24 і атрибутивний ризик ХГН.

В локусі В у хворих достовірно частіше, ніж в групі порівняння, зустрічалися антигени В8 ($RR = 2,52$), В38 ($RR = 5,97$), В41 ($RR = 5,50$) та В44 ($RR = 24,32$). Етіологічну фракцію складає HLA-B8 ($\sigma = 0,17$), а за локусом DR - DR1, -4, -w52. Протекторами захворювання є В12 та В16 ($p < 0,001$).

У половини з описаних пацієнтів зроблено біопсії нирок та визначений морфологічний діагноз, тому додатково характеризували фенотипи груп хворих з проліферативними (I) та непроліферативними ГН (II), до яких відносились більшість аналізованих фенотипів. Аналіз I групи виявив, що до етіологічної фракції відносяться А23 з $RR = 11,59$ і $\sigma = 0,20$ ($p = 0,041$), додаткові антигени - В14 з $RR=17,44$ і $\sigma=0,54$ ($p < 0,001$), а також В27 з $RR=6,13$ і $\sigma=0,30$ ($p = 0,024$), який часто визнається у разі аутоімунних хвороб.

Аналіз групи непроліферативних ГН виявив ще антигени відносного - А30 з $RR=15,05$ і $\sigma=0,08$ ($p < 0,001$) - та атрибутивного ризику - А19+31+32 з $RR=2,52$ і $\sigma=0,13$ ($p = 0,007$); протектор - А9 ($p < 0,001$).

Аналіз особливостей розподілу HLA-антигенів залежно від морфологічного діагнозу (в групах з достатньою для такого аналізу кількістю обстежених) дозволив підтвердити абсолютний ризик розвитку ФСГС (46 хворих) у носіїв А23, А24, А28, А30, А19+31+32, В14, В41, В44; антигени А2, А9, В12 і В16 зустрічалися у хворих достовірно рідше, їх можна вважати протекторами цієї форми ГН (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Частота розподілу HLA-A антигенів у хворих на ФСГС, відносний та атрибутивний ризик розвитку захворювання

Локус А						
HLA-B	п-аг контроль n=350	п-аг хворі n=46	частота аг (%) у здорових	частота аг (%) у хворих	RR	σ
A1	98	8	28,0	17,4	0,54	-0,15
A2	173	6	49,4	13,0	0,15 p < 0,001	-0,72
A3	60	8	17,1	17,4	1,02	0,003
A9	70	2	20,0	4,3	0,18 p = 0,004	-0,2
A10	60	7	17,1	15,2	0,87	-0,02
A11	57	10	16,3	21,7	1,43	0,065
A19	17	1	4,8	2,2	0,44	-0,03
A23	8	7	2,3	15,2	7,63 p = 0,004	0,13
A24	22	8	6,3	17,4	3,13 p = 0,043	0,12
A25	32	4	9,1	8,7	0,95	-0,004
A26	22	2	6,3	4,3	0,68	-0,02
A28	28	15	8,0	32,6	5,57 p < 0,001	0,27
A30	2	7	0,6	15,2	29,74 p < 0,001	0,15
A19+31+32	35	14	10,0	32,6	4,36 p = 0,021	0,25

Таблиця 2

Частота розподілу HLA-B антигенів у хворих на ФСГС, відносний та атрибутивний ризик розвитку захворювання

Локус В						
HLA-B	п-аг контроль n=350	п-аг хворі n=46	частота аг (%) у здорових	частота аг (%) у хворих	RR	σ
B5	56	1	16,0	2,2	0,17	-0,16
B7	73	8	20,8	17,4	0,80	-0,04
B8	47	9	13,4	19,6	1,57	0,07
B12	73	1	20,8	2,2	0,09 p < 0,001	-0,21
B13	61	6	17,4	13,0	0,70	-0,05
B14	25	11	7,1	23,9	4,10 p = 0,004	0,18
B15	34	4	9,7	8,7	0,89	-0,01
B16	33	0	9,4	0	p = 0,009	
B17	50	3	14,3	6,5	0,42	-0,09
B18	29	2	8,3	4,3	0,50	-0,04
B21	20	1	5,7	2,1	0,37	-0,04
B22	18	6	5,1	13,0	2,79 p = 0,124	0,08
B27	29	5	8,3	10,9	1,35	0,03
B35	60	1	17,1	2,2	0,11	-0,18

<i>Продовження таблиці 2</i>						
HLA-B	п-аг контроль n=350	п-аг хворі n=46	частота аг (%) у здорових	частота аг (%) у хворих	RR	σ
B38	3	3	0,8	6,5	8,65 p = 0,086	0,06
B39	1	1	0,3	2,2	7,39 p = 0,617	0,02
B40	36	5	10,3	10,9	1,06	0,007
B41	3	7	0,8	15,2	22,26 p < 0,001	0,15
B44	1	7	0,3	15,2	59,66 p < 0,001	0,15
B49	1	2	0,3	4,3	15,11 p = 0,140	0,04
B22+55	18	8	5,14	17,4	3,89 p = 0,020	0,13

МН (29 пацієнтів) асоціює з А10 (предиктор ХНН) - RR=2,55 і $\sigma=0,21$ (p = 0,031), В8 - RR=4,56 і $\sigma=0,17$ (p = 0,002), В38 - RR=25,83 і $\sigma=0,17$ (p = 0,001), В44 - RR=69,23 і $\sigma=0,17$ (p < 0,001); достовірно рідше зустрічалися ті ж самі антигени А2 (p = 0,034), А9 (p < 0,001), В12 (p < 0,001), а також В5 (p = 0,004); В16 має тенденцію до зниження в цій групі – p=0,067 (можливо, за рахунок її малочисельності).

Для ХМЗ (21 хворий) виявлені достовірні відмінності частоти зустрічаємості А28 з RR=5,7 і $\sigma=0,28$ (p = 0,002), В8 (асоціює з ГР) з RR=5,9 і $\sigma=0,40$ (p = 0,006), В44 з RR=103,8 і $\sigma=0,24$ (p = 0,011), які обумовлюють відносний ризик в групі всіх проаналізованих хворих на ХГН, НС; В12 виступає протектором так само, як і в попередніх підгрупах (ФСГС, МН).

Незважаючи на більш виражені прояви імунних уражень в біоптатах нирок у разі проліферативних ГН, ми вважали доцільним надати характеристику цитокінової ланки імунітету і для непроліферативних форм.

Дослідження крові хворих на ФСГН, МН та ХМЗ до лікування показали високий рівень тих самих цитокінів, що й в групах проліферативних ГН – прозапальних TNF α , IL-17, MCP-1 (з більш високими показниками останнього у разі проліферативних форм ГН), профіброгенного TGF- β , а також співвідношення TNF- α /TGF- β , що свідчить про перевагу прозапальних реакцій на фоні високої активності моноцитів-макрофагів и Т-хелперів 17.

Під час дослідження показників ендотеліальної дисфункції sVCAM-1 та VEGF, рівень яких у хворих на ХГН, НС також був достовірно вище норми (p<0,001 для обох показників), достовірної різниці між I та II гр не виявлено – відповідно, p=0,670 та p=0,626. Середній рівень Е-селектинів у пацієнтів був нижче за норму, різниці між групами також не було – p=0,758.

За наявності більш низького фонового рівню TNF- α при як МН, так і ФСГС в порівнянні з проліферативними формами (p < 0,05) різниці між собою показників обох цих форм ГН не було – відповідно 37,7 \pm 3,6 та 44,9 \pm 4,4 пкг/мл (p > 0,05).

На відміну від проліферативних форм ГН, не виявлено достовірної кореляції між рівнями цитокінів до лікування у пацієнтів як з ФСГС, так і МН і ХМЗ (p>0,05), що може свідчити про меншу значущість цієї ланки в імунігенезі непроліферативних ГН.

Не виявлено достовірних змін показників імунітету в групі хворих на непроліферативний ГН після проведеного лікування, за винятком зниження TNF- α (p = 0,001), середні рівні MCP-1 в крові мали тенденцію до зниження (p = 0,072) (рис. 1); але у хворих з позитивною динамікою під впливом терапії достовірно змінювався і цей показник (p = 0,028).

Виявлені деякі особливості для кожної з форм: у разі незадовільної реакції на терапію у хворих з ФСГС більш низькі фонові рівні протизапального IL-4 (p = 0,043), який не змінюється після лікування, при цьому співвідношення TNF- α /IL-4 у разі торпідного перебігу (ТП) хвороби достовірно нижче, ніж при досягненні клініко-лабораторної ремісії (КЛР) (p = 0,032); з ТП у разі МН асоціює тенденція до зниження в процесі терапії TGF- β (p < 0,01), можливо, внаслідок зменшення його протизапальної дії.

Для ФСГС характерний високий фоновий рівень VEGF, який більш виражений при подальшому ТП – відповідно, 232,2 [206,7; 374] та 190,7 [124,5; 260] (p = 0,05). Після терапії хворих з НП формами ГН рівні sVCAM-1 (p = 0,561), VEGF (p = 0,140) та Е-селектину (p = 0,832) не змінювались. Але у разі досягнення КЛР достовірно знижувався показник VEGF (p = 0,005) (на відміну від ТП, p = 0,366), тоді як sVCAM-1 та Е-селектин були без змін - відповідно, p = 0,815, p = 0,160.

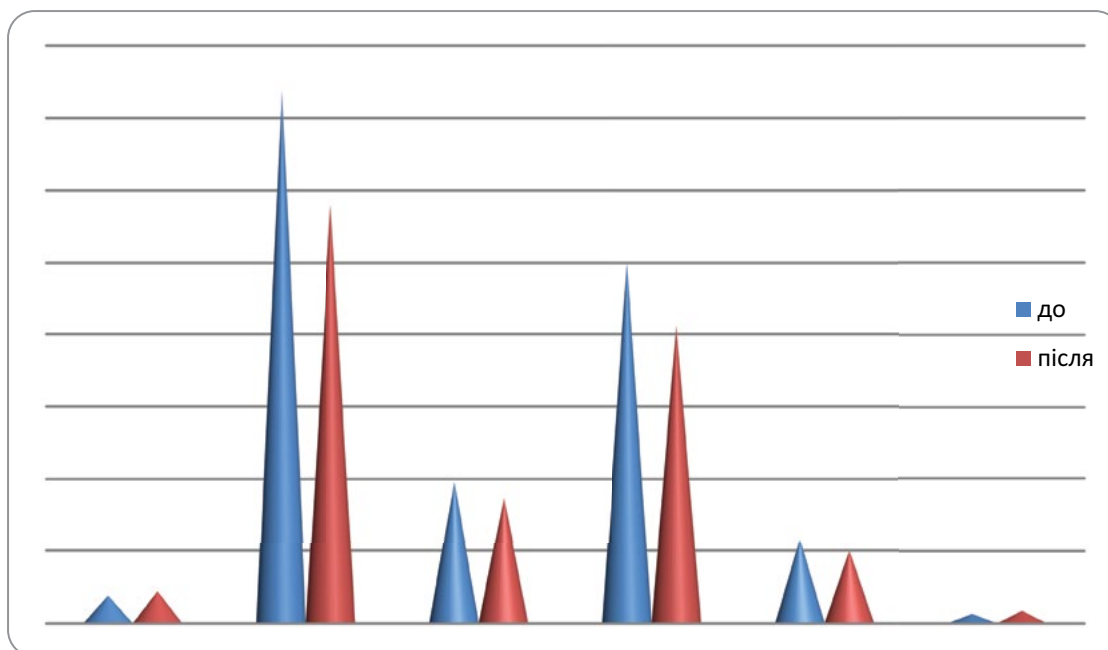


Рис.1. Сироваткові рівні показників імунітету у хворих на непроліферативні форми ХГН, НС до та після лікування ($p \geq 0,05$).

Обговорення. Актуальність та складність проблеми лікування ГН обумовлені тим, що у більшості випадків етіологічний фактор захворювання залишається невстановленим. Багато питань подальшого розвитку захворювання також не з'ясовані – це шляхи прогресування даної патології, причини виникнення резистентності до терапії глюкокортикоїдами та цитостатиками та ін. Це спонукає до визначення нових ланок патогенезу даного захворювання, прогностичних маркерів для розробки більш ефективних, індивідуалізованих методів лікування. В цьому аспекті перспективним є напрямок визначення зв'язку захворювань нирок з алелями HLA-генів, а також з алельними варіантами генів цитокінів [12]. Тому дуже цікавими і такими, що мають важливе практичне значення для клініцистів, вважаємо отримані дані щодо асоціації ХГН, НС з наявністю в фенотипі пацієнта HLA-A23, -24, -28, B8, -38, -41, -44 ($RR \geq 2$); причинна роль з абсолютним ризиком ($\sigma \geq 0,1$) встановлена для HLA-A24, -28.

Типування за локусом В виявило, що у пацієнтів з ХГН, НС відносний ризик обумовлюють B8, -38, -41 та -44 ($RR > 2,0$), що співпало з даними британських дослідників щодо асоціації B8 та B44 з деякими формами ГН [13]. Етіологічну фракцію хвороби складає HLA-B8 ($\sigma = 0,17$), відомо, що цей антиген в популяції зустрічається у осіб з сильним типом імунної відповіді [7].

Таким чином, нами вперше показано, що в українській популяції предикторами розвитку ХГН, НС в дорослому віці є наявність в фенотипі A23, A24, A28; B8, B38, B41, B44. Показана важлива роль антигенів A24 та A28 - етіологічної фракції розвитку як ХГН, НС в цілому, так і його окремих НП форм (ФСГС і ХМЗ), підтверджений не тіль-

ки відносний, але й абсолютний ризик розвитку ФСГС у носіїв A23, B41, B44. Звертає увагу зниження як у хворих на ХГН, НС, так і у разі його НП форм тих самих антигенів, які можна вважати протекторами захворювання – B12 і B16 (ФСГС, МН).

Виявлені особливості антигенів головного комплексу гістосумісності, характерних для хворих як на ХГН, НС, так і його НП форм та, в тому числі залежно від морфологічного діагнозу (ФСГС, МН і ХМЗ), мають важливе діагностичне та прогностичне значення. Звертає увагу підвищена частота зустрічаємості тих HLA, що несуть високий відносний ризик прогресування хронічної хвороби нирок (ХХН) – 1) розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН) [14] – A30, B41 при ФСГС, A10 (+атрибутивний ризик) при МГН і B41 при ХМЗ; а також 2) гормонрезистентності [15] – A19+31+32 при ФСГС, B8 у разі МН та ХМЗ. Наявність цих антигенів у пацієнтів з відповідними формами ХГН, НС можна вважати додатковими прогнозо-негативними факторами.

Звертає увагу той факт, що B27 був достовірно підвищений тільки у хворих з проліферативними формами ГН, тоді як жодна з проаналізованих нами НП форм не мала асоціативних зв'язків з цим антигеном, який супроводжує всі відомі на сьогодні патології так званого «кола захворювань HLA-B27» і часто визначається при аутоімунних хворобах – хвороба Бехтерева, хвороба Рейтера (60-80% зустрічаємості) [16, 17].

На даний час безперечним є значення цитокінової ланки в генезі імунозапальних захворювань нирок, до того ж, нирки мають біля 30% всієї ендотеліальної вистілки судин організму (гломерулярні капіляри), це робить їх залежними від функ-

ціонального стану ендотелію, дисфункція якого сприяє розвитку та прогресуванню ХГН [10, 11]. Взаємодія лейкоцитів та ендотелію відбувається постійно через спеціальні адгезивні молекули - Е-селектини на поверхні ендотеліоцитів, ICAM-1 і VCAM-1 як міжклітинні та судинні молекули адгезії. VEGF індукує проліферацію клітин ендотелію, може сприяти міграції макрофагів та, відповідно, впливати на рівень відповідних цитокінів *in situ* [18-20].

Для хворих на НП форми ХГН, НС, проаналізованих нами, з позитивною динамікою в процесі терапії асоційовано зниження сироваткових рівнів TNF- α , MCP-1 і VEGF; високі фонові рівні VEGF при МГН (> 300 пкг/мл) та низькі IL-4 при ФСГС (< 40 пкг/мл) можуть виступати як додаткові прогностичні маркери подальшої відповіді на терапію з розвитком торпідного перебігу.

Висновки. Виявлені HLA-антигени, що асоціюються з розвитком певних непроліферативних форм ХГН, а також особливості цитокінової ланки імунітету у разі ФСГС, МН та ХМЗ, в тому числі

в динаміці лікування. Визначені показники імунітету є додатковими прогностичними маркерами, використання яких дозволить більш диференційовано, індивідуалізовано підходити до призначення терапії хворим на ХГН: ГН, НС.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника:

В.Є. Дріяєвська – дизайн імунологічного дослідження, статистичний аналіз та написання статті;

М.Б. Величко – план обстеження хворих, їх лікування; аналіз клінічних даних;

О.П. Петрина – типування лімфоцитів та аналіз фенотипів пацієнтів;

Т.В. Порошина – дослідження цитокінів крові, аналіз їх динаміки;

В.М. Непомнящий – патоморфологічні дослідження;

Л.О. Ліксунова – консультації та лікування хворих, аналіз перебігу ГН;

Н.М. Малашевська – дослідження показників ендотеліальної дисфункції.

Література (References):

1. Smirnov A, Kayukov I, Dobronravov V. The concept of risk factors in nephrology: the prevention and treatment of chronic kidney disease. *Nephrology*. 2008;12(1):7-13. [In Russian]. Available from: <https://cyberleninka.ru/article/v/kontseptsiya-faktorov-riska-v-nefrologii-voprosy-profilaktiki-i-lecheniya-hronicheskoy-bolezni-pochek>
2. Huang Y, Noble N, Zhang J, Xu C, Border W. Renin-stimulated TGF- β expression is regulated by a mitogen-activated protein kinase in mesangial cells. *Kidney International*. 2007;72:45-52. doi: [10.1038/sj.ki.5002243](https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002243)
3. Huang Y, Noble N, Zhang J, Xu C, Border W. Renin-stimulated TGF- β expression is regulated by a mitogen-activated protein kinase in mesangial cells. *Kidney International*. 2007;72:45-52. doi: [10.1038/sj.ki.5002243](https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002243)
4. Jing-jie Zhao, Xi-bing Wang, Yun Luan, Jun-li Liu, Ling Liu, and Hong-Ying Jia. Association of human leukocyte antigen gene polymorphism and mesangial proliferative glomerulonephritis in a large population-based study. *Biomed Rep*. 2013; 1(5):751-756. doi: [10.3892/br.2013.152](https://doi.org/10.3892/br.2013.152)
5. Sergio R., Marquez G., Cipriani AM, Hassanhi M, Villalobos CC, Fuenmayor A, et al. HLA class I association with progression to end-stage renal disease in patients from Zulia, Venezuela. *Inmunologia*. 2012;31:37-42. doi: [10.1016/j.inmuno.2011.12.001](https://doi.org/10.1016/j.inmuno.2011.12.001)
6. Korotkova P., Valentik M., Movchan E., Maksimov V. Immunogenetic analysis of variants of clinical course and prognosis of chronic glomerulonephritis in Western Siberia. *Therapeutic archive*. 2006; 8: 73-9. [In Russian].
7. Shestakov A. Investigation of the association of a number of candidate genes with chronic glomerulonephritis [dissertation]. Institute of Genetics and Selection of Microorganisms; 2006. [In Russian].
8. Zaretskaya Yu. Clinical immunogenetics. M.: Medicine; 1983, 103 p. [In Russian].
9. Konenkov V., Smolnikova M. Structural foundations and functional significance of allelic polymorphism of genes of human cytokines and their receptors. *Medical immunology*. 2003; 5 (1-2): 11-28. [In Russian].
10. Mangalam A, Taneja V, David C. HLA class II molecules influence susceptibility versus protection in inflammatory diseases by determining the cytokine profile. *J Immunol*. 2013; 190: 513-18. doi: [10.4049/jimmunol.120189](https://doi.org/10.4049/jimmunol.120189)
11. Margieva T, Sergeeva T. Participation of markers of endothelial dysfunction in the pathogenesis of chronic glomerulonephritis. *Questions of modern pediatrics*. 2006; 5 (33): C. 22-30. [In Russian].
12. Ostalska-Nowicka D, Zachwieja J, Nowicki M, Kaczmarek E, Siwinska A, Witt M. Vascular endothelial growth factor (VEGF-C1)-dependent inflammatory response of podocytes in nephrotic syndrome glomerulopathies in children: an immunohistochemical approach. *Histopathology*. 2005;46(2):176-83. doi: [10.1111/j.1365-2559.2005.02076.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2005.02076.x)
13. Ruzibakieva M, Aripova T, Kasimov A, Yuldashev U. The meaning of two loci HLA class II haplotypes distribution in chronic glomerulonephritis and chronic kidney disease in uzbek population. *European journal of pharmaceutical and medical research*. 2018;5(6):420-23.

14. *Rashid H, Papiha S, Agroyannis B.* The association of HLA and other genetic markers with glomerulonephritis. *Hum Genet.* 1983;63:38-44.
15. *Kolesnik M., Drannik G., Driyanska V., Petrina O., Velychko M.* HLA-phenotype in the patients with chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome. *Journal of the NAS of Ukraine.* 2014;2(20):206-11. [In Ukrainian].
16. *Kolesnik M., Driyanska V., Drannik G., O. Petrina, M. Velychko., Nepomnyaschiy V., Liksunova L.* Associations of peculiarities of HLA-phenotype and the sensibility to the corticosteroid treatment in patients with chronic glomerulonephritis with nephrotic syndrome. 2013;1(37):37-45. [In Ukrainian]. doi: 10.31450/ukrjnd.1(37).2013.07
17. *Lechler R.* HLA and disease. London, Academic press limited; 1994. 186 p.
18. *Levey A, Atkins R, Coresh J, Cohen E, Collins A, Eckardt K et al.* Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives – a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney International.* 2007; 72: 247–259. doi: 10.1038/sj.ki.5002343
19. *Melnikov Yu, Makarova T.* Endothelial dysfunction as the central link in the pathogenesis of chronic diseases. *Kazan Medical Journal.* 2015; 96 (4): 659-665. [In Russian]. doi: 10.17750/KMJ2015-659.
20. *Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, Nishigaki I.* The Vascular Endothelium and Human Diseases. *Int J Biol Sci.* 2013; 9 (10): 1057-69. doi: 10.7150/ijbs.7502



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.03

N. Stepanova¹, L. Korol¹, V. Novakivskyy², M. Kolesnyk¹

The relationship between the dose of continuous erythropoietin receptor activator and oxidative stress in hemodialysis patients

¹State Institute «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences», Kyiv, Ukraine

²LLC “Fresenius Medical Care Ukraine” Medical Centre, Cherkasy, Ukraine

Citation:

Stepanova N, Korol L, Novakivskyy V, Kolesnyk M. The relationship between the dose of continuous erythropoietin receptor activator and oxidative stress in hemodialysis patients. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):18-24. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.03

Abstract. *At present, there have been no reports on the dose-dependent effects of continuous erythropoietin receptor activator (CERA) therapy on oxidative stress and red blood cell membrane lipid peroxidation parameters in hemodialysis (HD) patients.*

The aim of our work was to evaluate whether the dose of CERA treatment affected lipid peroxidation and antioxidant system in HD patients.

Methods. *38 HD patients were included in this single-center cross-sectional observational study. The study protocol was approved by a local Ethics Committee and all patients provided signed informed consent. The patients were stratified into quartiles ($\leq 25\%$ and $\geq 75\%$) according to the average dose of continuous erythropoietin receptor activator (CERA) and grouped in the following way: Group I (> 6 months of CERA treatment in a low dosage $\leq 50 \mu\text{g}/\text{month}$, $n = 20$) and Group II (> 6 months of CERA treatment in a high dosage $\geq 125 \mu\text{g}/\text{month}$, $n = 18$). Along with the standard diagnostic methods, we defined the content of malondialdehyde levels in the serum (MDAs) and erythrocytes (MDAe) spectrophotometrically as an indicator of lipid peroxidation. Such parameters as the concentration of ceruloplasmin (CP) and transferrin (TR) in the blood and total peroxidase activity (TPA) in erythrocyte were studied as the indicators of antioxidant system. In addition, we calculated the percentage of hemolysis, the RBC membrane permeability and oxidation coefficient.*

Results. *We obtained heterogeneous results in assessing oxidative stress parameters. The significantly higher levels of CP ($p = 0.007$) and TR ($p = 0.0003$) were found in the patients treated with a high dosage CERA. TPA activity in erythrocyte in the patients of Group II was statistically higher compared to Group I ($p = 0.02$). Moreover, we determined a statistically high percentage of hemolysis ($p = 0.03$) and RBC membrane permeability ($p < 0.0001$) in the patients who were treated with CERA in a dose $\geq 125 \mu\text{g}/\text{month}$ compared to other patients. Using the probit regression model, we established the dose-dependent effect of CERA on the level of RBC membranes permeability: $\chi^2 = 21$; $p < 0.0001$.*

Conclusions. *We demonstrated that administration of CERA in a dose more $125 \mu\text{g}/\text{month}$ improved the antioxidant status in HD patients. But, at the same time, it increased the hemolysis and RBC membranes permeability. Our preliminary data pointing to the dose-dependent effect of CERA on the RBC membrane lipid peroxidation parameters require further confirmation.*

Key words: *hemodialysis patients, continuous erythropoietin receptor activator, oxidative stress.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© N. Stepanova, L. Korol, V. Novakivskyy, M. Kolesnyk, 2018.

Correspondence should be addressed to Natalia Stepanova: nmstep@ukr.net

Article history:

Received 11 July 2018

Received in revised form
01 August 2018

Accepted 9 August 2018



© Степанова Н.М., Король Л.В., Новаківський В.В., Колесник М.О., 2018

УДК: 616.61-085.38-073.27:577.152.1

Н. Степанова¹, Л. Король¹, В. Новаківський², М. Колесник¹

Взаємозв'язок між дозою тривалого активатора рецепторів еритропоєтину та оксидативним стресом у хворих, які лікуються методом гемодіалізу

¹ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ

²Медичний центр ТОВ «Фрезеніус Медикал Кер Україна» у м. Черкаси

Резюме. Наукові дані щодо дозозалежного впливу тривалого активатора рецепторів еритропоєтину (ТАРЕ) на показники оксидативного стресу та перекисного окислення ліпідів мембран еритроцитів у хворих на хронічну хворобу нирок V, які лікуються гемодіалізом (ГД), є обмеженими.

Метою нашої роботи було оцінити взаємозв'язок між застосованою дозою ТАРЕ та інтенсивністю оксидативних процесів у ГД пацієнтів.

Матеріал та методи. 38 ГД пацієнтів були включені до одномоментного обсерваційного дослідження. Протокол дослідження був схвалений локальною етичною комісією ДУ «Інститут нефрології НАМН України». Усі пацієнти надали письму інформовану згоду на участь у дослідженні. Пацієнти були стратифіковані за кварталями ($\leq 25\%$ та $\geq 75\%$) відповідно до середньої дози ТАРЕ і розподілені наступним чином: I групу склали хворі, які отримували ТАРЕ більше 6 місяців у дозі ≤ 50 мкг/міс ($n = 20$), до II групи увійшли хворі, у яких доза ТАРЕ складала ≥ 125 мкг/міс ($n = 18$). Поряд із стандартними діагностичними методами досліджували концентрацію малонового діальдегіду у сироватці (МДА) й еритроцитах (МДАе), вміст у крові церулоплазміну (ЦП) та трансферину (ТР). Крім того, визначали загальну пероксидазну активність (ЗПА) у еритроцитах, проникність еритроцитарних мембран (ПЕМ), підраховували відсоток гемолізу.

Результати. У ГД пацієнтів, які лікувались ТАРЕ у дозі ≥ 125 мкг/міс визначено підвищення концентрації ЦП ($p = 0,007$) та ТР ($p = 0,0003$), тоді як ЗПА була статистично значуще зниженою порівняно з II групою ($p = 0,02$). Крім того, у пацієнтів I групи встановлено вищий відсоток гемолізу ($p = 0,03$) та ПЕМ ($p < 0,0001$). Використовуючи модель пробіт-регресії, ми визначили дозозалежний вплив ТАРЕ на рівень ПЕМ: $\chi^2 = 21$; $p < 0,0001$.

Висновки. Таким чином, застосування ТАРЕ у дозі понад 125 мкг на місяць покращує антиоксидантний статус ГД хворих, але разом з тим, підвищує гемоліз еритроцитів та ПЕМ. Отримані нами дані потребують подальшого підтвердження.

Ключові слова: гемодіаліз, тривалий активатор рецепторів еритропоєтину, оксидативний стрес.

Introduction. Oxidative stress (OS) is a constituent of the inflammatory mechanisms that contributes to anemia in hemodialysis (HD) patients. The intensity of OS is closely correlated with anemia and associated with poor clinical outcomes [1]. One of the possible causes of anemia association with oxidative stress is considered red blood cell (RBC) membrane lipid peroxidation due to chronic hemolysis in HD patients [2].

Nowadays, the prescribing of erythropoiesis-stimulating agents (ESA) plays an indispensable role in clinical practice for the treatment of anemia. Today, regular supplements of intravenous iron and ESA are standard therapies in the treatment of anemia in HD patients [3, 4].

There are a lot of current studies devoted to the effects of ESA on oxidative status in HD patients [5-9]. But, the results of these studies are contradictory.

Several clinical reports have demonstrated the positive impact of ESA on OS status in HD patients [7, 8] while other scientists have found no antioxidant effects of ESA [9, 10].

Continuous erythropoietin receptor activator (CERA) is a newer, longer acting ESA based on its lower frequency of administration [11]. However, at the present time, there have been no reports on the dose-dependent effects of CERA therapy on oxidative stress and red blood cell membrane lipid peroxidation parameters in HD patients.

Objectives. Therefore, the aim of our work was to evaluate whether the dose of CERA treatment affected lipid peroxidation and antioxidant system in HD patients.

Materials and methods. Study Design and Subjects. 38 HD patients were included in this single-center cross-sectional observational study which was conducted at State Institution «Institute of Nephrology of the National Academy of Medical Sciences» in Kyiv, Ukraine. The study protocol was approved by a local Ethics Committee and all patients provided signed informed consent.

The enrolment criteria were: patients aged >18 years who were at least six months on HD treatment, with a

Natalia Stepanova
nmstep@ukr.net

stable clinical condition and normally functioning arteriovenous fistula. We excluded the patients with erythropoietin-resistant anemia, systemic disease, diabetes mellitus, malignancy, acute inflammation processes, immunosuppressive treatment and active hepatitis.

The patients were stratified into quartiles ($\leq 25\%$ and $\geq 75\%$) according to the average dose of CERA and grouped in the following way: Group I (> 6 months of CERA treatment in a low dosage $\leq 50 \mu\text{g}/\text{month}$, $n = 20$) and Group II (> 6 months of CERA treatment in a high dosage $\geq 125 \mu\text{g}/\text{month}$, $n = 18$).

Dialysis prescription. All patients were routinely dialyzed three times a week, 4 h per session with bicarbonate based dialysate, volumetric ultrafiltration control, single use synthetic (polysulphone) dialyzers and heparin as a standard anticoagulant. Dialysis prescription was guided by a goal of achieving a value of $Kt/V \geq 1.2$.

Anemia treatment. Treatment of anemia was carried out in accordance with the clinical protocol of medical care "Treatment of patients with chronic kidney disease stage V with anemia" approved by the Ministry of Health of Ukraine [12]. Erythropoietin was prescribed via a standardized algorithm. All of the 38 HD patients received subcutaneous CERA (methoxy polyethylene glycol-epoetin beta) and intravenous iron replacement therapy. The dose of CERA was adjusted to maintain the individual patient's Hb within a range of $\pm 10 \text{ g/L}$ of the reference hemoglobin (Hb) concentration to achieve a hemoglobin value of 110–120 g/l. The iron dose was adjusted to reach ferritin and transfer saturation (TSAT) levels of 300–400 ng/ml and 30–40%, respectively. 100 mg of iron sucrose was administered in a dilution with 100 ml saline as 30 minute intravenous infusion at the end of HD session. Iron supplementation was temporarily discontinued in the patients with serum ferritin $> 800 \text{ ng/mL}$ or TSAT $> 50\%$ until serum ferritin decreased to $< 800 \text{ ng/mL}$ and TSAT to $< 50\%$ [12].

Methods. All measurements were performed after an overnight fast between 7.00–9.00 a.m. during a midweek non-dialysis day. The blood samples were processed immediately after sampling. Along with the standard diagnostic methods, we defined the content of malondialdehyde levels in the serum (MDAs) and erythrocytes (MDAe) spectrophotometrically as an indicator of lipid peroxidation. Such parameters as the concentration of ceruloplasmin (CP) and transferrin (TR) in the blood and total peroxidase activity (TPA) in erythrocyte were studied as the indicators of antioxidant system. In addition, we calculated the percentage of hemolysis AND the RBC membrane permeability.

Preparation of red blood cells: red cell suspensions for blood were taken with an anticoagulant (heparin) and centrifuged for 10 minutes at 3000 g. Red cell mass was washed three times with isotonic sodium chloride and centrifuged for 10 minutes at 3000 g. Here is the list of the reagents used in this study: 2,4-dinitrophenylhydrazine, 1,2-phenylenediaminedihydrochloride, Indigo Carmine, (Sigma-Aldrich, USA), transferrin (Fluka), urea, sodium fluoride, sodium acetic, ammonium

iron(III) citrate, potassium iodide, tris, trichloroacetic and thiobarbituric acid (Merck, Germany).

In order to estimate MDA, we used serum and red cell suspensions for blood which was drawn using vials containing of 3.8% sodium citrate and centrifuged for 10 minutes at 3000 g [13].

TPA concentration in erythrocyte: the reaction mixture contained 0.5 mL hemolysate of erythrocyte hemolysate (1:1000) sample, 1 mL of 0.2 M acetic buffer solution (pH 4.9), 1 mL 0.05 mM solution of Indigo Carmine solution. After 5 minutes incubation at 30 C, it was added 0.5 ml 0.03 M solution hydrogen peroxide to the samples. The control samples were added 0.5 ml of distilled water. The reaction was stopped 2 min after the addition of 3 ml of 20% sulfuric acid. The absorbance was measured at 670 nm.

For the purpose of studying CP and TR, it was used 2.5 mL of whole blood which was taken from a vein and centrifuged at 2500 r.p.m. for 5 minutes. **CP concentration:** the reaction mixture contained 0.05 mL sample, 4 mL of 0.4M acetic buffer solution (5.5) and 0.5 mL of 0.5% aqueous solution of 1.2 phenylenediamine dihydrochloride. After 1h incubation at 37 C, it was added 1 mL 3% aqueous solution of sodium fluoride, and, absorbance was measured at 530 nm.

TR concentration: the reaction mixture contained 0.1 mL sample, 1 mL of 0.2% solution of ammonium iron (III) citrate (5.5–5.8). After 30 minutes incubation at room temperature, absorbance was measured at 440 nm. As a standard, a TR solution was used [13].

The rate of hemolysis was calculated based on the measurement of Hb released from the cells relatively to the total amount of Hb in the RBC suspension. Free Hb concentration was determined by cyanmethemoglobin method using Drabkin's reagent. The percentage of hemolysis was calculated using the formula described by K. Janatpour et al [14]. A supernatant volume was calculated from Ht.

Determination of RBC membrane permeability (%) was performed by the method, which is based on the detection of differences in the osmotic stability of erythrocytes in a mixture with different concentrations of isotonic solutions of sodium chloride and urea [15].

Statistical analysis. Analysis and all graphs were performed using MedCalc (Belgium). The average means (M) and standard deviations (SD) or the median (Me) and interquartile ranges [Q25 - Q75] were calculated according to a normal distribution. For the statistical analysis, we used the Student's t-test and nonparametric (U-test) Mann-Whitney. Categorical variables were expressed as proportions, and, chi-square tests were used for the comparison of 2 Groups.

The dose dependence assessment was performed using the probit regression model. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated using logistic regression. Correlation analysis was performed using the Spearman non-parametric criterion (r).

Results. The demographic, biochemical and clinical characteristics of the HD patients both with and without CERA treatment are presented in Table 1.

Table 1

Demographic and clinical characteristics of the HD patients

Parameter	Group I (n = 20)	Group II (n = 18)	p
Gender (m/f, %)	60/40	44/56	0.71
Age, years	52.6 ± 4.4	55.1 ± 3.3	0.07
Duration of HD (months)	46.8 ± 14.3	52.8 ± 16.2	0.23
Kt/V	1.31 ± 0.3	1.36 ± 0.8	0.8
Hb (g/L)	109.4 ± 6,8	112.2 ± 3,4	0.12
TSAT (%)	45.6 ± 15.5	52.4 ± 12.02	0.17
Ferritin (ng/mL)	695 [402-725]	723 [425-806]	0,76
CERA dose (µg/month)	50 [25-75]	125 [100-150]	0.0001
iPTH (pg/ml)	527.4 [380-750]	593.4 [390-810]	0.8
Albumins (g/L)	36.1 ± 3.8	37.8 ± 3.1	0.14
P (µmol/L)	1.82 ± 0.7	2.2 ± 1.1	0.2
Ca (µmol/L)	2.21 ± 0.3	2.11 ± 0,7	0.56
CRP (mg/L)	6.8 ± 2.9	6.1 ± 4.01	0.54

Data are presented as mean ± standard deviation, or median [25th–75th percentile], or proportions; Ca: calcium; CERA: continuous erythropoietin receptor activator; CRP: C-reactive protein; iPTH: intact parathyroid hormone; Hb: hemoglobin; P: phosphate; TSAT: transferrin saturation.

Accordingly, the data given in Table 1 represented the evidence that CERA therapy with different dosages showed non-significant difference in most of measured demographic and clinical parameters.

In assessing oxidative stress parameters, we obtained heterogeneous results. The evaluated parameters in the study groups are shown in Table 2.

Table 2

Oxidative stress parameters in the HD patients depending on the monthly overage dose of CERA

Parameter	Group I (n = 20)	Group II (n = 18)	p
MDAs, , µmmol/L	476 [411-565]	540 [437-604]	0.06
MDAe, , µmmol/L	604 [411-772]	617 [450-639]	0.27
CP, g/L	0.13 [0.11-0.17]	0.15 [0.16-0.2]	0.007
TR, g/L	2.3 [1.9-2.2]	2.7 [2.4-2.9]	0.0003
TPA, µmol/min/g Hb	196 [175-216]	204 [179-261]	0.02
Hemolysis (%)	4.79 ± 3.05	7.07 ± 4.3	0.03
RBC membrane permeability (%)	9 [4-13]	21.6 [16.6-28]	< 0.0001

Data are presented as mean ± standard deviation or median [25th–75th percentile] or proportions; CP: ceruloplasmin; MDAs: serum malondialdehyde; MDAe: erythrocytes malondialdehyde; RBC: red blood cells; TR: transferrin; TPA: total peroxidase activity.

The data displayed in Table 2 demonstrated the significantly higher levels of CP ($p = 0.007$) and TR ($p = 0.0003$) in the patients on high CERA dosage treatment. TPA activity in erythrocyte of Group II patients was statistically higher compared to Group I ($p = 0.02$).

But, the results of our study indicated not only the positive antioxidant effects of high doses of CERA in

the HD patients. We determined a statistically high percentage of hemolysis ($p = 0.03$) and RBC membrane permeability ($p < 0.0001$) in the patients who were treated with CERA in a dose ≥ 125 µg/month compared to other patients.

A direct correlation was observed between the rate of hemolysis and TSAT ($r = 0.43$, $p = 0.008$; Fig. 1).

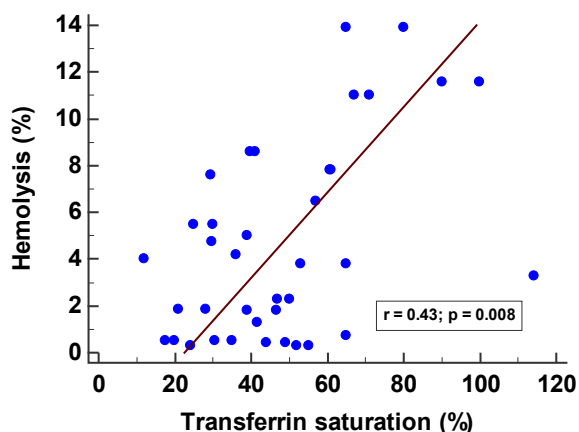


Fig. 1. The correlation between the rate of hemolysis and the serum transferrin saturation level in the HD patients.

Moreover, the level of TPA had a significant negative correlation with the RBC membrane permeability ($r = -0.4$; $p = 0.01$; Fig. 2).

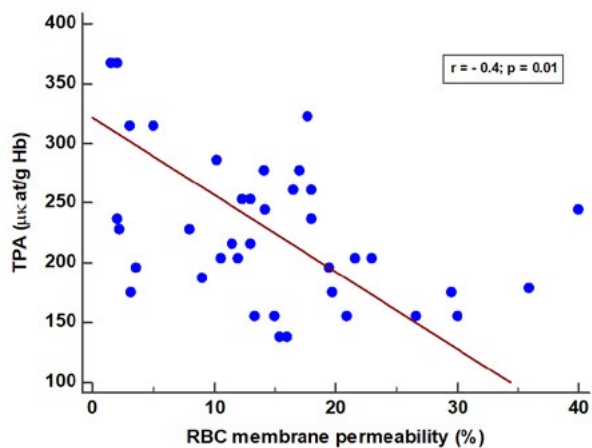


Fig. 2. The correlation between the TPA level and the RBC membrane permeability in the HD patients.

Using the probit regression model, we established the dose-dependent effect of CERA on the level of RBC membranes permeability: $\chi^2 = 21$; $p < 0.0001$ (Fig. 3).

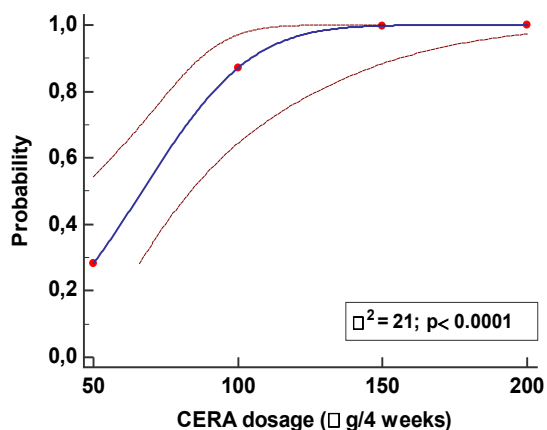


Fig.3. Dose-response plot of a CERA dosage and RBC membrane permeability in the HD patients.

That is, the higher a CERA dosage was applied to achieve the target Hb level in the HD patients, the higher RBC membrane permeability was observed: OR = 17.9, (95% CI 3.03 to 106).

Discussion. There are numerous evidence suggesting excessive oxidative stress in HD patients which can result from loss of antioxidants during dialysis procedures and accumulation of oxidative products [1, 16-18]. Focusing on the association between oxidative stress and anemia, it can be noted that increasing oxidative stress is frequently declared in HD patients who fail to respond to ESA administration [16, 19]. In accordance with these data, we confirmed this position in our study: a tendency of increasing serum MDA level was found in the patients requiring a higher dose of CERA.

Moreover, previous evidence has shown that ESA therapy has an antioxidant effects in HD patients [1, 7, 8, 20, 21]. In this study, we also showed and proved the positive association between antioxidant parameters and a CERA dosage. CP, TR and TPA blood concentration were significantly higher in the HD patients who were treated with a CERA dose ≥ 125 $\mu\text{g}/\text{month}$.

It is well known that the oxidative stress promotes ESA resistance by causing lipid peroxidation of RBC membranes [22]. Erythrocytes are particularly prone to the action of free radicals because they are a potential source of reactive oxygen species. In addition, in order to prevent peroxidation reactions, the oxidative stress depletes the protective mechanisms of RBC [23]. Based on these facts, we found it interesting to compare RBC membrane lipid peroxidation parameters in the HD patients depending on a CERA dose. To our knowledge, studies on the dose-dependent effect of CERA on RBC membrane lipid peroxidation parameters in HD patients are few. It should be noted that our study is not the first to observe the impact of ESA on erythrocyte's oxidative status. But, actually, we are the first to demonstrate a significantly negative effect of a higher CERA dose on RBC membrane lipid peroxidation parameters.

The main finding of the present study was the strong association of a higher CERA dose (≥ 125 $\mu\text{g}/\text{month}$) in the HD patients with the increasing level of RBC hemolysis and membrane permeability levels. As the patient groups with different CERA doses had similar demographic and clinical characteristics in our study, the differences encountered between them with respect to hemolysis and RBC membrane permeability levels could not be attributed to varying degrees of anemia, treatment duration, dialysis quality or inflammation.

In point of fact, there is no current consensus as to the impact of ESA in general and CERA specifically on the intensity of oxidative stress and RBC membrane lipid peroxidation parameters in HD patients. The results we obtained are contrary to the most of existing data. Thus, in a recent experimental study, Aizawa K et al has demonstrated that the intravenous administering of the adequate CERA dose (0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ every 2 weeks during 5 weeks) improves erythrocyte quality (deform-

ability and life-span) in rats [24]. Zorica M. Dimitrijevic with her colleagues has suggested that long term of ESA administration attenuates the lipid peroxidation process and restores the levels of antioxidants [8]. In an earlier study, Galluci M et al has indicated that the ESA therapy is related to a decrease in RBC membrane oxidative damage [25].

On the other hand, Pawlak et al has showed no effect of one-year ESA therapy on oxidative stress markers in patients undergoing regular HD [9]. Moreover, E. Tutal et al has indicated a significantly higher intensity of oxidative stress in HD patients requiring high doses of EPO. The patients with poor ESA responses had a significantly higher level of MDA and lower levels of plasma superoxide dismutase [26]. The authors have concluded that increased oxidative stress has a strong influence on ESA response in HD patients, and, therefore, it can also be a potential explanation of the data we received.

Thus, according to our findings, we observed that the patients with higher CERA requirements showed a higher antioxidant status simultaneously with higher percents of hemolysis and RBC membrane permeability.

We acknowledged some limitations in our study. First, in this study, the oxidative stress markers were measured just a once. In this way, cross-sectional design of our study could not provide definite information about cause-effect relationship between CERA treatment and oxidative stress. Second, it was a small sample size study performed in a single center; therefore, our findings only revealed associations. Third, we

did not take into account the iron dose which could also affect the results. Finally, there was a high probability of changes in the intensity of oxidative processes in the HD patients with a high level of the comorbidity index.

Despite its limitations, the strong association observed in the present study has indicated the potential impact of a monthly CERA dose $\geq 125 \mu\text{g}$ in the violating of RBC membrane lipid peroxidation. The larger scale well-planned studies are needed for further confirmation of our findings.

Conclusions. In conclusion, we demonstrated that administration of CERA in a dose more $125 \mu\text{g}/\text{month}$ improved the antioxidant status in HD patients. But, at the same time, it increased the hemolysis and RBC membrane permeability. Our preliminary data pointing to the dose-dependent effect of CERA on the RBC membrane lipid peroxidation parameters require further confirmation.

Disclosure Statement. The authors declare no conflict of interest.

Authors' contributions.

N. Stepanova: analyzed and interpreted the patient data, a major contributor in writing the manuscript.

L. Korol: performed the biochemical examination in the blood samples, analyzed and interpreted the patient data.

V. Novakivskyy: interpreted the data.

M. Kolesnyk: idea and management of the research.

References:

1. Liakopoulos V, Roumeliotis S, Gorny X, Dounousi E, Mertens PR. Oxidative Stress in Hemodialysis Patients: A Review of the Literature. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017;2017:3081856. doi:10.1155/2017/3081856.
2. Tharmaraj D, Kerr PG. Haemolysis in haemodialysis. *Nephrology*. 2017;22: 838-847. doi:10.1111/nep.13119
3. KDIGO Clinical practice guideline for Anaemia in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl*. 2012;2:279-335. doi:10.1038/kisup.2012.37
4. Mikhail A, Brown C, Williams JA, et al. Renal association clinical practice guideline on Anaemia of Chronic Kidney Disease. *BMC Nephrology*. 2017;18:345. doi:10.1186/s12882-017-0688-1.
5. Khalil SKM, Amer HA, Behairy AM, Warda M. Oxidative stress during erythropoietin hyporesponsiveness anemia at end stage renal disease: Molecular and biochemical studies. *Journal of Advanced Research*. 2016;7(3):348-358. doi:10.1016/j.jare.2016.02.004.
6. Fassett RG, Driver R, Healy H, et al. Comparison of markers of oxidative stress, inflammation and arterial stiffness between incident hemodialysis and peritoneal dialysis patients – an observational study. *BMC Nephrology*. 2009;10:8. doi:10.1186/1471-2369-10-8.
7. Siems W, Carluccio F, Radenkovic S, Grune T, Hampl H. Oxidative stress in renal anemia of hemodialysis patients is mitigated by epoetin treatment. *Kidney & Blood Pressure Research*. 2005;28(5-6):295-301. doi: 10.1159/000090184.
8. Dimitrijevic ZM, Cvetkovic TP, Djordjevic VM, et al. How the Duration Period of Erythropoietin Treatment Influences the Oxidative Status of Hemodialysis Patients. *International Journal of Medical Sciences*. 2012;9(9):808-815. doi:10.7150/ijms.4910.
9. Pawlak KI, Pawlak D, Mysliwiec M. Long-term erythropoietin therapy does not affect endothelial markers, coagulation activation and oxidative stress in haemodialyzed patients. *Thromb Res*. 2007;120(6):797-803. doi: 10.1016/j.thromres.2007.02.004
10. Mircescu GI, Căpușă C, Stoian I, Mărăcine M, Muscurel C, Gârneată L, Bărbulescu C. Influence of epoietinum therapy on the oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephron Clin Pract*. 2005;100(4):126-32. doi: 10.1159/000085441

11. *Saglimbene VM1, Palmer SC, Ruospo M, Natale P, Craig JC, Strippoli GF.* Continuous erythropoiesis receptor activator (CERA) for the anaemia of chronic kidney disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017 Aug 7;8:CD009904. doi: 10.1002/14651858.CD009904.pub2.
12. Likuvannia khvorykh na z khronichnu khvorobu nyrok V HD stadii. Adaptovana klinichna nastanova, zasnovana na dokazakh ta unifikovani klinichni protokoly. – K. : «Polihraf plius», 2016. – 228 s.
13. *Korol LV, Mygal LYa, Stepanova NM.* Intensity of oxidative stress and activity of angiotensin converting enzyme in blood of patients with uncomplicated pyelonephritis. *Ukr.Biochem.J.* 2017;89(2):99-105. doi: 10.15407/ubj89.02.099
14. *Janatpour K, Denning L, Nelson K, et al.* Comparison of X-ray vs. gamma irradiation of CPDA-1 red cells. *Vox Sang.* 2005;89:215–219. doi: 10.1111/j.1423-0410.2005.00699.
15. *Kamyishnikov VS.* Spravochnik po klinicheskoy laboratornoy diagnostike: V 2t. Minsk: Belarus; 2002. 463 s.
16. *Bartnicki P, Fija kowski P, Majezyk M, B aszczyk J, Banach M, Rysz J.* Effect of methoxy polyethylene glycol-epoetin beta on oxidative stress in predialysis patients with chronic kidney disease. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research.* 2013;19:954-959. doi:10.12659/MSM.884024.
17. *Sosa M, Balk ME, Lau J, Liangos O, Balakrishnan VS, Madias NE, Pereira BJG, Jaber BL.* A systematic review of the effect of the Excebrane dialyser on biomarkers of lipid peroxidation. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2006; 21(10):2825–2833. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfl376>
18. *Müller C, Eisenbrand G, Gradinger M, Rath T, Albert FW, Vienken J, Singh R, Farmer PB, Stockis J-P, Janzowski C.* Effects of hemodialysis, dialyser type and iron infusion on oxidative stress in uremic patients, free radical research. 2004; 38(10):1093-1100, doi: 10.1080/10715760400011452
19. *Tonon J, Guarnier FA, Cecchini AL, Cecchini R.* Anemia associated with extraerythrocytic oxidative stress damage mediated by neutrophil superoxide anion production in chronic renal failure patients undergoing hemodialysis. *Pathophysiology.* 2012; 19(4):261-8. doi: 10.1016/j.pathophys.2012.07.006.
20. *Katavetin PI, Tungsanga K, Eiam-Ong S, Nangaku M.* Antioxidative effects of erythropoietin. *Kidney Int Suppl.* 2007;(107):10-5. doi: 10.1038/sj.ki.5002482.
21. *Ahmadiasl N, Banaei S, Alihemmati A.* Combination Antioxidant Effect of Erythropoietin and Melatonin on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences.* 2013;16(12):1209-1216. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3933796/>
22. *Bamgbola OF.* Pattern of resistance to erythropoietin-stimulating agents in chronic kidney disease. *Kidney International.* 201;80(5):64-474. doi:10.1038/ki.2011.179
23. *Mohanty JG, Nagababu E, Rifkind JM.* Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Frontiers in Physiology.* 2014;5:84. doi:10.3389/fphys.2014.00084.
24. *Aizawa K, Kawasaki R, Tashiro Y, Shimonaka Y, Hirata M.* Epoetin beta pegol for treatment of anemia ameliorates deterioration of erythrocyte quality associated with chronic kidney disease. *BMC Nephrology.* 2018;19:19. doi:10.1186/s12882-018-0818-4.
25. *Gallucci MT, Lubrano R, Meloni C, Morosetti M, Manca di Villahermosa S, Scoppi P, Palombo G, Castello MA, Casciani CU.* Red blood cell membrane lipid peroxidation and resistance to erythropoietin therapy in hemodialysis patients. *Clin Nephrol.* 1999;52(4):239-45.
26. *Tutal E, Sezer S, Bilgic A, Aldemir D, Turkoglu S, Demirel O, Ozdemir N, Haberal M.* Influence of oxidative stress and inflammation on rHuEPO requirements of hemodialysis patients with CRP values “in normal range”. *Transplant Proc.* 2007;39(10):3035-40. doi: 10.1016/j.transproceed.2007.06.090.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

¹Ie.A. Burlaka, ²I.V. Bagdasarova

doi: 10.31450/ukrjnd.2(58).2018.04

Apoptosis as a mechanism of the albumin-induced kidney damage in childhood nephrotic syndrome

¹National O.O. Bogomolets Medical University, Kyiv

²SI “Institute of Nephrology National Academy of Medical Sciences of Ukraine”, Kyiv

Citation:

Burlaka IeA, Bagdasarova IV. Apoptosis as a mechanism of the albumin-induced kidney damage in childhood nephrotic syndrome. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):25-30. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.04

Abstract. *It was shown previously on in vivo studies that proteinuria-induced effects play a crucial role in renal damage in chronic kidney disease (CKD). However, an initial mechanism of irreversible kidney damage in pediatric diseases characterized by chronic proteinuria, i.e. nephrotic syndrome, remains to be unclear.*

The aim of our work was to study the initial mechanism of kidney cells apoptosis development in nephrotic children.

Methods. An examination of renal biopsies of 53 patients (aged 10 to 15 years) with nephrotic syndrome hospitalized in Pediatric Nephrology unit of the Children Clinical Hospital №7 (Kyiv, Ukraine) done. In vitro studies of albumin toxicity performed on rat proximal tubular cells in primary culture (RPTC).

Results. Our study showed that albumin overload in nephrotic children leads to high levels of apoptosis. Its distribution and level varies regarding the level of focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). The progression of sclerosis as a sign of irreversible kidney damage is accompanied by gradual increase in expression of proapoptotic factor Bax.

In vitro studies on rat proximal tubular cells in primary culture (RPTC) showed that excessive albumin uptake into rat primary renal cells causes an almost immediate mitochondrial accumulation of the apoptotic factor Bax. We hypothesize that this might be initial pathway leading to kidney cells apoptosis in childhood nephrotic syndrome.

Conclusions. We show that overexpression of apoptotic factor Bax has a place in children with nephrotic syndrome. Thus, chronic influence of albumin is a factor predisposing disturbances in system controlling apoptosis in this cohort of patients. Our data demonstrate that there is a dependence between the Bax overexpression level and the stage of CKD. We show the topologic difference between the Bax levels and FSGS degree. This is an indication that development of glomerular and tubule-interstitial disorders under the influence of proteinuria occurs in specific range. In vitro data demonstrate that albumin overload causes mitochondrial Bax translocation that could be an initial factor in apoptotic pathway activation.

Keywords: *nephrotic syndrome, albumin, toxicity, Bax translocation.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© Ie.A. Burlaka, I.V. Bagdasarova, 2018.

Correspondence should be addressed to Ievgeniia Burlaka: evgbur1982@gmail.com

Article history:

Received 12 June 2018

Received in revised form
24 July 2018

Accepted 9 August 2018



© Бурлака Є.А., Багдасарова І.В., 2018

УДК 616.61-0002.3-036.12

¹Є.А. Бурлака, ²І.В. Багдасарова

Апоптоз як механізм індукованого альбуміном пошкодження нирок при нефротичному синдромі у дітей

¹Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, Київ

²ДУ«Інститут нефрології Національної академії медичних наук України», м. Київ

Резюме. Раніше у дослідженнях *in vivo* було показано, що ефекти, викликані протеїнурією, відіграють вирішальну роль в пошкодженні нирок при хронічному захворюванні нирок (ХЗН). Однак ініціальний механізм незворотного пошкодження нирок у дітей при захворюваннях, що супроводжуються хронічною протеїнурією, зокрема при нефротичному синдромі, залишається не зрозумілим.

Метою нашої роботи було вивчення ініціального механізму розвитку апоптозу у дітей з нефротичним синдромом.

Методи. Проведено обстеження біоптатів нирок у 53 хворих (віком від 10 до 15 років) з нефротичним синдромом, госпіталізованим до відділення дитячої нефрології дитячої клінічної лікарні №7 (м. Київ, Україна). Експериментальні дослідження токсичності альбуміну, проведені на первинній культурі проксимально-тубулярних клітинах нирок щурів (ПТКНШ).

Результати. Наше дослідження, проведене на біоптичному матеріалі тканин нирок дітей з нефротичним синдромом, показало, що хронічний вплив альбуміну призводить до високого рівня апоптозу. Його розподіл та рівень залежить від рівня фокального сегментарного гломерулосклерозу (ФСГС). Прогресування склерозу, як ознаки незворотного пошкодження нирок, супроводжується поступовим збільшенням експресії проапоптозного фактора Вах.

Дослідження *in vitro*, проведене на первинній культурі проксимально-тубулярних клітин нирок щурів, показало, що вплив високих рівнів альбуміну на ці клітини, викликає майже негайне накопичення проапоптозного фактора Вах навколо мітохондріальних мембран. Ми припускаємо, що це може бути ініціальним процесом шляхом, який веде до апоптозу клітин нирок при нефротичному синдромі у дітей.

Висновки. Виявлено, активація експресії проапоптозного фактора Вах має місце у дітей з нефротичним синдромом. Таким чином, хронічний вплив альбуміну є чинником, що викликає порушення в системі, що контролює апоптоз у цій когорті хворих. Виявлено залежність між рівнем надмірної експресії Вах та стадією ХЗН. Встановлено топологічну різницю між рівнями Вах та ступенем фокально-сегментарного гломерулосклерозу (ФСГС). Це вказує на те, що формування гломерулярних та тубуло-інтерстиційних пошкоджень під впливом протеїнурії відбувається у певному порядку. Дані *in vitro* свідчать, що перевантаження альбуміном викликає мітохондріальну транслокацію Вах, що може бути початковим фактором активації апоптозного сигнального шляху.

Ключові слова: нефротичний синдром, альбумін-індукована токсичність, транслокація Вах.

Introduction. Chronic kidney disease (CKD) is a significant global public health problem with poor prognosis and elevated health care costs [1-3]. Recent clinical guidelines on CKD incorporate albuminuria and the estimated glomerular filtration rate (eGFR) to define and stage CKD [2,3]. CKD results from a variety of causes, including diabetes, glomerulonephritis, hypertension, infections and polycystic kidney disease [4]. Most forms of CKD are progressive and are characterized by disrupted glomerular perm-selectivity, glomerular sclerosis, progressed albuminuria, loss of podocytes and glomerular tubular disconnection [4, 5].

It was shown *in vitro* and *in vivo* that main pathomorphological outcomes that apply to kidney damage in CKD are glomerulosclerosis, vascular sclerosis, tubular-interstitial fibrosis. Adaptive changes of nephrons after the primary injury which can no longer be compensated with time, ultimately lead to irreversible disorders - scarring, sclerosis and further loss of nephrons leading to the end-stage CKD (ES-CKD) formation. Inflammation plays an important role in the development and progression of chronic kidney pathologies and is the primary and persistent violation, which underlies the pathogenesis of others [6]. All mentioned above pathophysiological violations might be accompanied by apoptosis. Apoptosis is programmed cell death that occurs when kidney disease has a place and plays an important role in their physiology. Harmful effects of apoptosis are in fact a source of a large number of kidney cells lost during and/or renal inflammation, scarring, loss of kidney function [7]. The molecular mechanisms of albumin-induced apoptosis and their

Ievgeniia Burlaka
evgbur1982@gmail.com

outcomes in nephrotic children are not studies substantially.

The aim of our work was to study the initial mechanism of kidney cells apoptosis development in nephrotic children.

Materials and methods. Patients. An examination of renal biopsies of 53 patients (aged 10 to 15 years) with nephrotic syndrome hospitalized in Pediatric Nephrology unit of the Children Clinical Hospital №7 (Kyiv, Ukraine) was done. All patients were treated accordingly with the local protocols. Among all patients 24 (45.28%) were with hormone-sensitive type of nephrotic syndrome, others – 29 (54.72%) showed hormone-dependent type of nephrotic syndrome. Complex examination other than conventional methods (inspection, monitoring blood pressure, general and biochemical blood tests, determination of daily proteinuria, urinary sediment study and concentration ability of the kidneys, ultrasound of the abdomen etc.), immunohistochemical assessment of apoptosis-dependent glomerular and tubule-interstitial damage were done.

Immunohistochemistry. Renal tissue (3- μ m sections) was deparaffinized and rehydrated prior to processing. Antigen retrieval was carried out by boiling in Citrate Buffer (10mM Citric Acid, 0.05% Tween20, pH 6.0) for 20 min. Sections were treated with Triton X-100 0.3% (Sigma-Aldrich NV/SA, Bornem, Belgium) in PBS for 20min. After three PBS washes, sections were incubated with blocking buffer (5% bovine serum albumin and Triton X-100 0.1% in PBS) for 1 hour. The rabbit polyclonal anti-Bax antibody (Santa Cruz, CA, USA) was applied at a dilution of 1:50 in 5% bovine serum albumin in PBS overnight at 4 C. Following three PBS washes, sections were incubated with a secondary Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit IgG (1:500) for 1h at room temperature. Nuclei were counterstained with DAPI. All samples were stained for an identical length of time and under identical conditions. All recordings for each staining were done during one day using identical gain settings. Sections were mounted in Immu-Mount (Thermo Shandon, Midland, Canada) and observed with Leica TCS SP inverted confocal scanning laser microscope using 25X/0.8NA oil-immersion objective. Image analysis was performed using ImageJ software (NIH Image, Baltimore, MD, USA). Three areas in each section were analyzed [8].

Detection of apoptotic cells: Terminal Deoxynucleotidyl (TdT)-Mediated dUTP Nick-End Labeling (TUNEL) assay. An ApopTag Red In Situ Apoptosis Detection kit (Chemicon International, USA) was used to determine the AI, according to the manufacturer's instructions. The kidney tissue cells were mounted in Immu-Mount (Thermo Shandon, Midland, Canada), and the images were recorded with a Zeiss LSM 510 laser scanning confocal microscope using a 25X/0.8NA oil-immersion objective. TUNEL stain was detected using 488 nm excitation and a 510-550 nm band-pass filter. ApopTag was detected using 561nm excitation and a 575 nm long pass filter. Cells were considered

apoptotic when they exhibited ApopTag Red staining and characteristic apoptotic morphology. The AI was calculated as the percentage of TUNEL-positive cells. In each preparation, eight to ten randomly selected areas were examined, and in each area, between 100 and 200 DAPI-stained cells were counted [9].

Cells. RPTC were prepared from kidneys of 20-day-old male Sprague-Dawley rats as described previously. The studies performed in Sweden followed the Karolinska Institutet regulations concerning care and use of laboratory animals and were approved by the Stockholm North ethical evaluation board for animal research. The kidneys were removed and placed in 0.9% NaCl at room temperature. The cortical layers were dissected and placed in Hank's balanced salt (Invitrogen, Grand Island, USA) solution at 37°C and gently mixed using a fire-polished Pasteur pipette. The reaction was stopped by washing the cells twice in a solution containing 1% trypsin inhibitor. After washing, equal volumes of cell suspension were plated on 12-mm glass coverslips in 24-well Petri dishes. The cells were cultured for 3 days in supplemented DMEM (20 mM HEPES, 24 mM NaHCO₃, 10 μ g/ml penicillin, 10 μ g/ml streptomycin, and 10% FBS) on glass coverslips in 5% CO₂ at 37°C. On day two in vitro, when the cells have been shown to maintain most of their proximal tubule characteristics, the cells were exposed to the 0, 5, 10, or 20 mg/mL of fatty acid and endotoxin-free bovine albumin alone (Sigma-Aldrich, St.Louis, USA), with ouabain (Sigma-Aldrich, St.Louis, USA) or with vehicle (PBS) for 8 or 18 h [9].

Bax translocation assessment. RPTC were cultured as described previously. On day two in vitro, when they have been shown to maintain most of their proximal tubule characteristics, the cells were exposed to the mitochondria-targeted green fluorescent protein Cell-Light® Mitochondria-GFP BacMam (Life Technologies, Grand Island, USA) overnight in the incubator. On day three in vitro, RPTC were incubated with 0, 2.5 or 10 mg/mL of albumin with or without ouabain (5 nM) or vehicle (PBS) for 0-8 h. In another set of experiments, the cells were treated with 10 mg/mL albumin for 0, 15, 30 or 45 min. For Bax immunostaining, the cells were fixed in 4% PFA, washed once with cold PBS and treated with Triton X-100 (Sigma-Aldrich NV/SA, Bornem, Belgium). The mouse monoclonal anti-Bax [6A7] Ab primary antibodies (Abcam, Cambridge, UK) were applied overnight at 4°C. The controls were subjected to the same treatment, but the primary antibody was omitted. The secondary Alexa Fluor 546 goat anti-mouse IgG IgG (Invitrogen, Grand Island, NY, USA) was applied for 1 h at room temperature. The cells were mounted and observed using a Zeiss LSM 510 laser scanning confocal microscope and a 63X/1.4NA oil objective. Analysis of the Bax translocation to the mitochondria was performed with the Matlab image processing toolbox.

Statistics. Statistical analysis was done using the method of variation statistics (STATISTICA 6.0) and

nonparametric statistical approaches (Mann-Whitney test). Results are presented as Mean \pm SEM. $P < 0.05$ was considered as statistically significant.

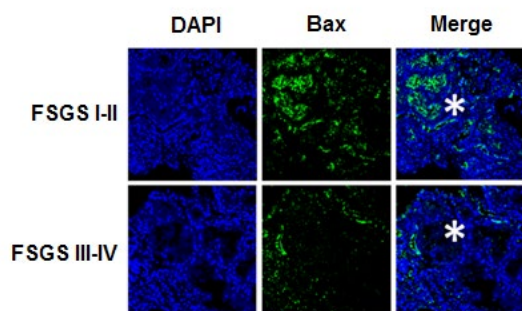
Results. Patients characteristics. Characteristics for participating patients given in Table 1.

Table 1

Group characteristics for participating patients

Characteristics	Value
Age, years	11.09 \pm 3.46
Body mass index	21.5 \pm 1.3
Sex (male/female)	29/24
Normal BP/AH	21/32
Hormone-sensitive type of nephrotic syndrome/ hormone-dependent type of nephrotic syndrome	24/29
Average disease course, years	9.09 \pm 2.16

BP – blood pressure, AH - arterial hypertension.

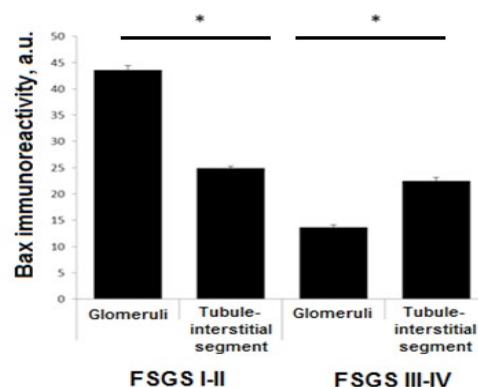


* - glomeruli, * $p < 0.05$.

Fig. 1. Topical characteristic of the Bax expression in different stages of FSGS. DAPI: visualization of nuclei; Bax: Bax immune signal in kidney tissue.

Apoptosis level in kidney tissue of nephrotic children. Results of the apoptosis level analysis in kidney sections of biopsy material of nephrotic children with morphological form of chronic glomerulonephritis focal segmental glomerulosclerosis revealed the presence of high level of apoptotic cells. Moreover, it is shown that in sclerotic glomeruli with the level of glomerulosclerosis I-II st. the majority of apoptotic cells localized in glomeruli. In case of glomerulosclerosis IV st. a high

Proapoptotic factor Bax expression in kidney tissue of patients with nephrotic syndrome. We have analyzed the levels of expression and localization of proapoptotic factor Bax in patients with morphological variant of nephrotic syndrome – focal segmental glomerulosclerosis. Stages of FSGS were determined by level of glomerular sclerotic area. Level of sclerosis corresponding to $\leq 25\%$ of the glomerular area was assumed as I stage of FSGS, II stage of FSGS - 25-50%, III stage – 50-75% and IV stage – 75-100%. Analysis of Bax expression in kidney biopsies from children with focal segmental glomerulosclerosis show the presence of high level of Bax expression in both glomerular and tubule-interstitial segments. Higher level of immune signal was recorded in glomeruli as compared to tubule-interstitial segment in FSGS I-II stages (43.57 ± 0.88 a.u. vs 24.9 ± 0.41 a.u., $P < 0.01$). When complete glomerular sclerosis presents a high level of Bax was documented in the surrounding tubule-interstitial segment (13.7 ± 0.42 a.u. vs 22.5 ± 0.65 a.u., $P < 0.01$) (Figure 1).



level of apoptosis detected in surrounding tubule-interstitial segment (Fig. 2, A).

Quantitative analysis showed that in case of FSGS I-II st. the apoptotic index (AI) in glomeruli: $22.29 \pm 0.86\%$, in tubule-interstitial segment: $9.43 \pm 0.59\%$ ($p < 0.01$). At high level of glomerulosclerosis (IV st.) distribution of apoptotic cells was different. High AI found in tubule-interstitial component: $29.27 \pm 1.18\%$, in glomeruli AI detected at level $4.7 \pm 0.54\%$ ($p < 0.001$) (Fig. 2, B).

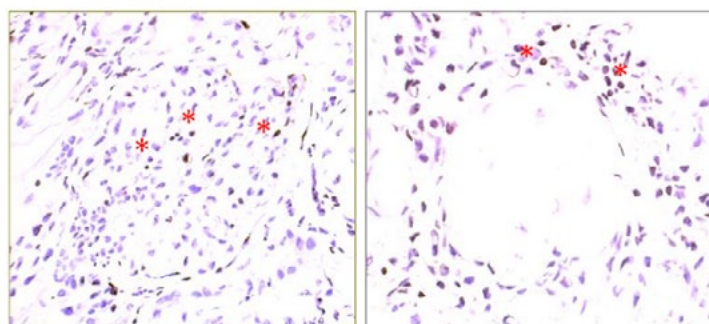
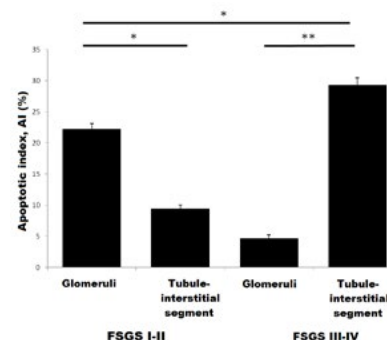
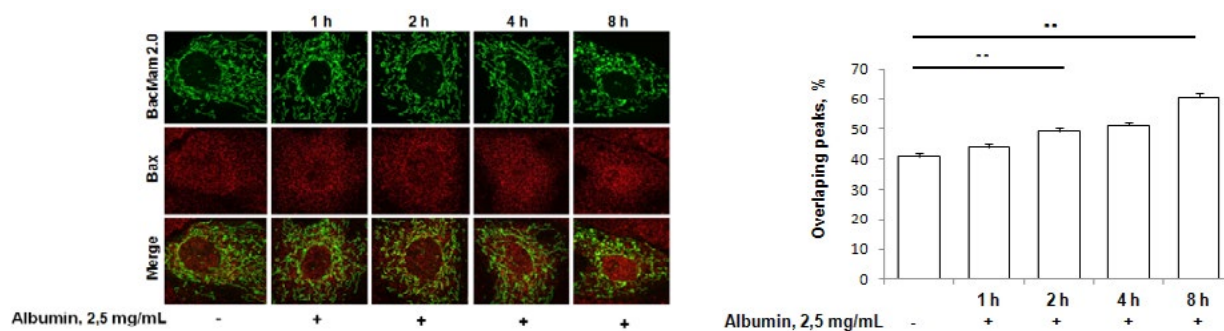


Fig. 2. Apoptosis level in kidney tissue of nephrotic children. A: TUNEL staining; B: quantitative analysis of apoptosis.



Albumin overload induces Bax translocation to mitochondria. In this study we used an albumin to induce apoptosis in RPTC. To further characterize mitochondrial involvement in albumin toxicity, we performed time sequence studies, monitoring Bax and mitochondria co-localization in albumin-exposed rat proximal tubule. Concentration of albumin 2.5 mg/mL

used in this experiment. The co-localization of immunolabeled Bax and mitochondria expressing GFP was analyzed in confocal micrographs (Fig. 3). Co-localization increased in a time-dependent manner, and the increase was significant after 2 hours incubation with 2.5 mg/mL albumin.



** $p < 0.01$. Statistical analysis was performed using the Mann-Whitney U test. Experiments were repeated four times

Fig. 3. Immunofluorescence staining of proapoptotic factor Bax (red) in RPTC incubated with 2.5 mg/ml albumin. Cells were transfected with mitochondrial marker BacMam 2.0 (green). Number of co-localized Bax/mitochondrial peaks was counted.

Discussion. Proteinuria is the hallmark of glomerular diseases, and the magnitude of proteinuria is an established adverse prognostic factor in a variety of progressive nephropathies [10]. Ongoing proteinuria has been proposed to lead to tubular injury primarily via excessive tubular cell uptake of filtered proteins and/or protein-bound substances such as fatty acids. Albumin, the most abundant protein in the glomerular filtrate, is endocytosed by proximal tubule cells and can cause direct tubule cell injury in animals and cell culture models [10, 11]. Several mechanisms remain under investigation in these experimental settings, proposed [12]. There is, however, a paucity of mechanistic information in pediatric diseases characterized by chronic proteinuria, i.e. nephrotic syndrome.

The relationship between the two cardinal pro- and anti-apoptotic members of the Bcl2 family of proteins, Bax and Bcl-xL, plays a crucial role in determining the balance between cell life and death [13]. We demonstrated that in vitro cellular uptake of albumin causes rapid accumulation of Bax around the mitochondria, resulting in the disabling of the mitochondrial membrane and initiation of the apoptotic process. These in vitro data may be crucial in further understanding of the apoptosis initiation in patients.

Here we show that overexpression apoptotic factor Bax have a place in children with nephrotic syndrome meaning that chronic influence of albumin is a factor predisposing disturbances in system controlling apoptosis in this cohort of patients. Our data demonstrate that there is a dependence between the Bax overexpression level and the stage of CKD. We show the topologic difference between the Bax levels and FSGS degree. This is an indication that development of glomerular and tubule-interstitial disorders under the influence of proteinuria occurs in specific range.

Conclusions. We show that overexpression of apoptotic factor Bax has a place in children with nephrotic syndrome. Thus, chronic influence of albumin is a factor predisposing disturbances in system controlling apoptosis in this cohort of patients. Our data demonstrate that there is a dependence between the Bax overexpression level and the stage of CKD. We show the topologic difference between the Bax levels and FSGS degree. This is an indication that development of glomerular and tubule-interstitial disorders under the influence of proteinuria occurs in specific range. In vitro data demonstrate that albumin overload causes mitochondrial Bax translocation that could be an initial factor in apoptotic pathway activation. Further study of the molecular mechanisms, i.e. specific caspases-3, -8 activation, fibrosis markers levels in children with nephrotic syndrome has a great importance for understanding the nature of the disease progression.

Disclosure Statement. This work was covered by the grant 0105U 003769.

Authors' contributions.

Ie.A. Burlaka: hypothesis generation, references collection, material collection, experimental work proceeding, data analysis, manuscript writing and submission

I.V. Bagdasarova: hypothesis generation, references analysis, material collection arrangement.

References:

1. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney international*. 2013;3(1):136–150. doi:10.1038/kisup.2012.1. [https://experts.umn.edu]

2. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) KDIGO Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter.* 2013;3(1):1-150. doi: 10.1038/kisup.2012.73.
3. Eckardt KU, Coresh J, Devuyst O, et al. Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden. *Lancet.* 2013;382(9887):158–169. doi:10.1016/S0140-6736(13)60439-0 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
4. Fogo AB. Mechanisms of progression of chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(12):2011–2022. doi:10.1007/s00467-007-0524-0
5. Hemmelgarn BR, Manns BJ, Lloyd A et al. Relation between kidney function, proteinuria, and adverse outcomes. *JAMA.* 2010;303:423-429. doi: 10.1001/jama.2010.39. [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>]
6. Abbate M, Zoja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:2974–2984. doi.org:10.1681/ASN.2006040377.
7. Sanz AB, Santamaría B, Ruiz-Ortega M. et al. Mechanisms of Renal Apoptosis in Health and Disease. *JASN.* 2008; 19:91634-1642. doi.org/10.1681/ASN.2007121336
8. Smeets B, Stucker F, Wetzels J. et al. Detection of Activated Parietal Epithelial Cells on the Glomerular Tuft Distinguishes Early Focal Segmental Glomerulosclerosis from Minimal Change Disease. *Am J Pathol.* 2014; 184(12): 3239–3248. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.08.007.
9. Li J, Zelenin S, Aperia A and Aizman O. Low Doses of Ouabain Protect from Serum Deprivation–Triggered Apoptosis and Stimulate Kidney Cell Proliferation via Activation of NF- κ B. *JASN* 2006; 17 (7) 1848-1857. doi: 10.1681/ASN.2005080894.
10. Meyer TW. Tubular injury in glomerular disease. *Kidney Int* 2003; 63:774-787. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00795.x
11. D'Amico G, Bazzi C. Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int* 2003; 63:809-25. doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00840.x
12. Dickson LE, Wagner MC, Sandoval RM, Molitoris BA. The Proximal Tubule and Albuminuria: Really! *J Am Soc Nephrol* 2014; 25(3):443-53. doi: 10.1681/ASN.2013090950.
13. Opferman J.T., Kothari A. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development. *Cell Death and Differentiation* 2018; 25:37-45. doi: 10.1038/cdd.2017.170.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

O.V. Lavrenchuk, I.V. Bagdasarova, M. A. Ponomareva

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.05

Functional state of the kidneys in children who suffered acute kidney injury in the catamnesis of observation

SI «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine», Kyiv

Citation:

Lavrenchuk OV, Bagdasarova IV, Ponomareva MA. Functional state of the kidneys in children who suffered acute kidney injury in the catamnesis of observation. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):31-37. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.05

Abstract. *Acute kidney injury (AKI) in children has a polyethiological structure, peculiarities of the course of age-related diseases and a high risk of developing chronic kidney disease (CKD) in catamnesis.*

The aim of the study was to study the functional status of the kidneys in children undergoing AKI in remote terms.

Materials and methods. *The functional status of the kidneys (velocity of the balloon filtration (GFR) by Schwartz, the level of parathyroid hormone (PTH), albuminuria (AU), dynamic and static renoscintigraphy (RSG)) were analyzed retrospectively, according to 60 histories of diseases of children aged 1 to 18 years old AKI during 2000-2016.*

Results. *During the first year of follow-up, 61.5% of patients retained blood azotemia, slowed GFR, and high AU. Further follow-up of this group of patients revealed a tendency to normalize the levels of creatinine, urea, and GFR, but the increase in AU levels. In the follow-up dynamics of 5 to 15 years, it was determined that in 13.3% of patients, GFR ranged from 90 to 85 ml / min, and in 36.7% - from 85 to 30 ml / min. In 46.7% of children with unchanged creatinine and GFR, an increase in albuminuria from 45 to 601 mg / day was noted. During the observation period, 15 years or more, 53.3% of the child was fully recovered; in 31.6% of patients, chronic renal failure (CRF) was diagnosed, and 30.0% had a defective recovery - a consistent reduction of the function with available markers of damage kidney.*

Conclusions. *Acute kidney damage was more common among children of the first 3 years of life, mainly in boys. The etiological factor of the onset of the disease was hemolytic uremic syndrome on the background of acute intestinal infection. A complete recovery was documented in 20.0% of the convalescents of the AKI, in 30.0%, the persistence of renal damage markers with function restoration was confirmed, and in 18.3% a significant, steady decline in the function of the kidneys. A multi-purpose scintigraphic study with radiopharmaceuticals with different drugs showed signs of tubal and glomerular disorders in 7-8 years before laboratory changes.*

Key words: *acute kidney injury, children, the kidney functions, the catamnesis, the chronic kidney diseases.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© Lavrenchuk O.V., Bagdasarova I.V., Ponomareva M. A., 2018.

Correspondence should be addressed to Olga Lavrenchuk: lvi_lov@meta.ua

Article history:

Received 11 July 2018

Received in revised form
06 August 2018

Accepted 17 August 2018



© Лавренчук О. В., Багдасарова І. В., Пономарева М.А., 2018

УДК 616.61 – 008.6 – 036.11 – 053.2

Лавренчук О. В., Багдасарова І. В., Пономарева М.А.

Функціональний стан нирок у дітей, що перенесли гостре пошкодження нирок, в катамнезі спостереження.

Державна установа “Інститут нефрології НАМН України”, м. Київ

Резюме. Гостре пошкодження нирок (ГПН) у дітей має поліетіологічну структуру, особливості перебігу залежні від віку захворювання і високий ризик розвитку хронічної хвороби нирок (ХХН) в катамнезі.

Метою дослідження стало вивчення функціонального стану нирок у дітей, що перенесли ГПН, у віддалених термінах.

Матеріали та методи. Було ретроспективно проаналізовано функціональний стан нирок (швидкість клубкової фільтрації (ШКФ) за Шварцом, рівень паратіреоїдного гормону (ПТГ), альбумінурії (АУ), динамічної і статичної реносцинтиграфії (РСГ)) за даними 60 історій хвороб дітей від 1 до 18 років, що перенесли ГПН протягом 2000–2016 р.р.

Результати. Протягом першого року спостереження у 61,5% хворих зберігалась азотемія, уповільнення ШКФ та високий рівень АУ. Подальше спостереження за цією групою хворих виявило тенденцію нормалізації рівнів креатиніну, сечовини, ШКФ, але зростання рівнів АУ. В динаміці спостереження від 5 до 15 років, визначено, що у 13,3% пацієнтів ШКФ становила від 90 до 85 мл/мін, а у 36,7% – від 85 до 30 мл/мін. У 46,7% дітей при незмінених показниках креатиніну і ШКФ, відмічено зростання рівню альбумінурії від 45 до 601 мг/добу. За період спостереження, від 15 років і більше, повністю одужало 53,3% дитини, у 31,6% хворих констатована хронічна ниркова недостатність (ХНН), а у 30,0% спостерігалось одужання з дефектом – стійке зниження функції з наявними маркерами пошкодження нирок.

Висновки. Гостре пошкодження нирок частіше зустрічалось серед дітей перших 3 років життя, переважно у хлопчиків. Етіологічним чинником виникнення захворювання був гемолітико-уремічний синдром на фоні гострої кишкової інфекції. Повне одужання документоване у 20,0% реконвалесцентів ГПН, у 30,0% констатовано персистенцію маркерів пошкодження нирки з відновленням функції, а у 18,3% значне, стійке зниження функції нирок. Багатоцільове скінциграфічне дослідження з радіофірмпрепаратами різного типу виведення виявило ознаки порушення канальцевих та гломерулярних функцій за 7–8 років до появи лабораторних змін.

Ключові слова: гостре пошкодження нирок, діти, функція нирок, катамнез, хронічна хвороба нирок.

Вступ. Гостре пошкодження нирок розцінюється як клінічний синдром, що виникає внаслідок ряду факторів, таких як специфічні захворювання нирок (гострий інтерстиціальний нефрит, гострі гломерулярні і судинні ураження нирок), неспецифічні стани (ішемія, токсичні ураження), а також екстраренальні порушення (преренальна азотемія і гостра постренальна обструктивна нефропатія). Актуальність цієї проблеми обумовлена поліетіологічною структурою, особливостями розвитку і перебігом у дітей різних вікових груп і високим ризиком розвитку хронічної хвороби нирок як наслідку [1, 2].

С. Р. Andreoli відмічав наступні вікові відмінності розвитку ГПН у дітей: у дітей до 2 років ГПН частіше асоційоване з кортикальним некрозом, тромбозом ниркової артерії або вени, гіпоксично ішемічним ушкодженням, обструктивною уропатією, дисплазією нирок [3]. У підлітків 12–18 років

ГПН частіше за все асоційовано з швидко прогресуючим гломерулонефритом, системними васкулітами і інтерстиціальним нефритом, обструктивній уропатії, при токсичному і гіпоксично/ішемічному пошкодженні [4].

Найбільше розповсюдженою причиною ГПН у дітей раннього віку є гемолітико-уремічний синдром (ГУС) [5]. Серед педіатричних пацієнтів типовий ГУС, що виникає після кишкової інфекції у 90% хворих, атипівий ГУС, асоційований з стрептококовою пневмонією або НІВ [5, 6]. Цікаво, що відновлення функції нирок у 60–70% таких хворих або швидке, або – прогресування в ХХН. В зв'язку з цим були розроблені наступні практичні рекомендації KDIGO (2012): Пацієнти з ГПН мають знаходитись під спостереженням протягом 3 місяців для визначення ступеня відновлення функції нирок, повторного епізоду ГПН чи погіршення перебігу наявної раніше ХХН [7].

Одноцентрове дослідження і данні мета-аналізів демонструють, що стани – ГПН і ХХН, що виникають в дитячому віці, стають причиною невеликої кількості випадків ХХН у всьому світі в цілому, але більш ніж зрозуміло, що хвороби нирок у дорослих – артеріальна гіпертензія, протеїнурія, ХХН є наслідком дитячих проблем [8–12].

Лавренчук Ольга Василівна

lvi_lov@meta.ua

Дослідження російських колег підтвердили, що ГПН з поліетіологічною структурою у дітей і дорослих характеризується наслідками в повне одужання, одужання з дефектом або в термінальну ниркову недостатність [2].

Актуальним питанням дитячої нефрології є пошук інформативних і доступних біомаркерів для моніторингу функції нирок в динаміці у реконвалесцентів ГПН. На сучасному етапі маркерами ушкодження нирок вважається протеїнурія, зростання креатиніну сироватки крові та зниження ШКФ. Аналіз літератури свідчить, що всі дослідження проводилися у дорослих, хворих на ХХН різного походження, але практично немає подібних досліджень серед дітей. Крім того, більшість пацієнтів дитячого віку випадає з поля зору нефролога після покращення їх стану, але за даними світової літератури, перенесений стан призводить до розвинення ХХН з прогресивним безсимптомним погіршенням функції нирок до ХНН [2, 13].

Метою нашого дослідження було вивчення функціонального стану нирок у дітей, що перенесли ГПН, у віддалених термінах.

Матеріали і методи. Проаналізовано 60 історій хвороб пацієнтів (від 1 до 18 років), що перене-

сли гостре пошкодження нирок і спостерігалися у відділенні дитячої нефрології ДУ «Інститут нефрології НАМН України» (клінічна база – відділення нефрології ДКЛ №7 м. Києва). Обстеження проводилось при поступленні у відділення після лікування в НДКЛ «Охматдит», через 3 місяці, 6 місяців та 1 раз на рік до 17 річного віку. Комплекс обстеження включав загальноприйняті рутинні методики, функціональний стан нирок оцінювали за показниками швидкості клубкової фільтрації (за Шварцом), концентраційної функції (за Зимницьким), визначався рівень ПТГ, альбумінурії, динамічної і статичної реносцинтиграфії. Всім хворим виконано УЗД черевної порожнини та нирок. Рівень ПТГ гормону в крові і альбумінурії визначався в комерційних лабораторіях м. Києва. Багатоцільове скінтіграфічне дослідження з РФП різного типу виведення: динамічна РСГ з каналцевим РФП – Тс-ДТПА та статична РСГ з РФП тривалої фіксації в нирках – 99mTc-ДМСА виконано на базі кафедри радіології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (2003-2016 роки) та оцінено ретроспективно.

Результати. Структуру обстежених хворих представлено у таблиці 1.

Таблиця 1

Характеристика хворих, включена в дослідження (n/%)

Нозологічна форма	Стать		Вік, роки		
	хлопчики	дівчатка	<3	3-7	>7
ГУС	13/68,4	6*/31,6	15/78,9	2/10,5	2**/10,5
ГУС+СПОН	9/69,2	4*/30,8	10/81,8	3/23,1	-
Гемолітична анемія	11/64,7	6/35,3	10/58,8	4/23,5	3/17,6
ГУС+сепсис	7/63,6	4/36,4	6/54,4	2/18,2	3/27,3
Кількість хворих, n	40	20	41	11	8

Примітка. p<0.05: *з хлопчиками, **з групою до 5 років.

Було встановлено, що серед реконвалесцентів ГПН переважали діти перших 3 років життя 34/56,7%, на другому за частотою місці були діти від 5 до 11 років 13/21,6%, пацієнти віком від 1 року до 3 – 9/15,0% і підлітки (14-17 лет) – 4/6,67%, переважали хлопчики - 43/71,7%, дівчата – 17/28,3% (табл. 2).

Аналізуючи епідеміологічну поширеність ГПН по областях України, встановлено найбільшу кількість випадків у Києві та області - 11/18,3%, Вінницька обл. – 7/11,7%, Дніпропетровська обл. – 6/10,%, решта областей мало приблизно однакову кількість випадків ГПН від 8,3-3,3% випадків.

Таблиця 2

Чинники ГПН залежно від віку дітей (n/%)

Чинники ГПН	Клінічна група		
	до 3-х років	3-6 років	6-17 років
Кількість хворих, n	40	6	14
ГКІ	35/52,5	3/3,3	11/9,2
Сепсис	2/3,3	3/4,9	12/10,2
ОГН	-	1/1,6	2/3,3

Продовження таблиці 2

Чинники ГПН	Клінічна група		
	до 3-х років	3-6 років	6-17 років
ГРВІ	2/3,3	3/4,9	1/1,6
Гемолітична анемія	-	2/3,3	1/1,6
Преренальний фактор	2/3,3	-	-
Контраст	-	-	1/1,6
Вакцинація	1/1,6	-	-
Неустановлена етіологія	1/1,6	-	1/1,6

За даними анамнезу перитонеальний діаліз отримувала 31/51,7%, дитина, гемодіаліз – 16/26,7%, без еферентних методів терапії проліковано 8/13,3% пацієнтів. В середньому термін перитонеального діалізу становив 13,3 доби, а термін відновлення самостійного діурезу – 22,7 доби.

За весь період спостереження, від 15 років і більше, повністю одужало 32/53,3% дитини, у 19/31,6% хворих констатована хронічна ниркова

недостатність (ХНН), а у 18/30,0% спостерігалось одужання з дефектом – стійке зниження функції (15 мл/хв.<ШКФ<89 мл/хв.) з наявними або відсутніми маркерами пошкодження нирок [4].

Всі хворі були розподілені на 2 групи за терміном катанезу – 1 група до 3 років спостереження від початку захворювання, 2 група – від 5 років і більше та за показником ШКФ (табл. 3).

Таблиця 3

Показники функції нирок в динаміці спостереження

Показники	Клінічна група					
	ШКФ>90		ШКФ 60-90		ШКФ<60	
	Група 1	Група 2	Група 1	Група 2	Група 1	Група 2
n	20	16	13	6	12	5
ШКФ	110/ 100;121	108/ 101;115	76/ 73;82	64/ 62;76	50/ 32;54	45/ 44;47
креатинін	51/ 42;60	65/ 56;75	58/ 53;72	84/ 64;87	128/ 84;187	11/ 97;143
сечовина	5/4;5	5/4;6	6/6;8	8/7;10	12/11;15	10/10;1
ПТГ	-	-	80/ 47;106	-	134/ 116;164	-
АУ	12/ 4;66	33/ 8;130	12/ 4;66	138/ 84;184	157/ 49;298	546/ 450;684

Примітки: кількісні перемінні представлено як медіана/25;75 перцентилі.

Протягом першого року спостереження у 16/61,5% з 26 хворих зберігалась азотемія, уповільнення ШКФ та високий рівень АУ. Подальше спостереження за цією групою хворих виявило тенденцію нормалізації рівнів креатиніну, сечовини, ШКФ, але зростання рівнів АУ. (див. табл. 3).

Так на момент виписки з відділення замісної терапії, рівень креатиніну складав 75/53;123, через рік – 69/52;104, а більше 5 років катанезу – 81/64;104, показники статистично не значущі. Рівень альбумінурії через рік становив 55/7;180, через 5 років – 81/23,173.

В динаміці спостереження від 5 до 15 років, визначено, що у 4/13,3% пацієнтів ШКФ становила

від 90 до 85 мл/мін, а у 11/36,7% - від 85 до 30 мл/мін. У 14/46,7% дітей при не змінених показниках креатиніну і ШКФ, відмічено зростання рівню альбумінурії від 45 до 601 мг/добу (рис. 1).

Інтегральна оцінка функціонального стану нирок проводилась у 22 хворих за багатоцільовим сцинтиграфічним дослідженням з РФП різного типу виведення у різні терміни після ГПН. За результатами аналізу лабораторних показників всі пацієнти були розподілені на 3 групи: 1 група – повне одужання, 2 група – одужання з дефектом (помірне або значне, стійке зниження функції з наявними або відсутніми маркерами пошкодження нирок), 3 група – ХНН.

При дослідженнях з ^{99m}Tc -ДМСА у хворих всіх груп відзначали нерівномірність і зменшення швидкості накопичення РФП (табл. 4). Звертало увагу, що у пацієнтів, віднесених до групи здоро-

вих, відмічалось зменшення відсотку включення РФП до 5,8% при нормі 8% і вище, що свідчило про паренхіматозне порушення функціональних параметрів діяльності нирок.

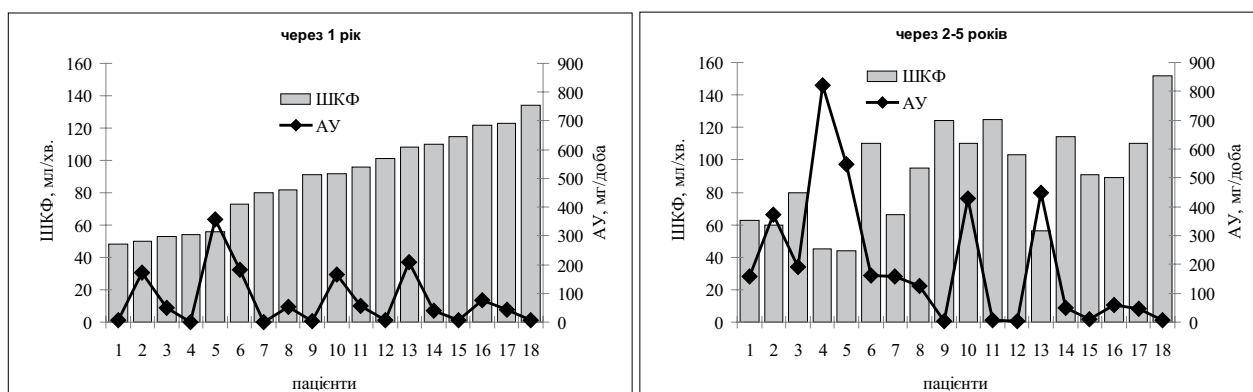


Рис. 1. Співставлення показників ШКФ і АУ у реконвалесцентів ГПН в катамнезі спостереження.

Таблиця 4

Показники статичної РСГ з ^{99m}Tc -ДМСА у дітей після ГПП

Показник	Клінічна група			p
	1	2	3	
Включення РФП до 180 хв., %	5,8/2,2;6,5	4,3/2,9;5,4	1,6/1,1;2,0	1-3: p=0,010; 2-3: p<0,001
Кількість ділянок пониженого включення, n	2/1;2	2/1;3	0/0;1	2-3: p=0,017

Примітка: кількісні перемінні представлено як медіана/25;75 перцентилі;

При ДРСГ з ^{99m}Tc -ДТПА відмічалось зниження клубочкової фільтрації до 45% у пацієнтів першої групи (табл. 5).

Таблиця 5

Показники динамічної РСГ з ^{99m}Tc -ДТПА у дітей після ГПП

Показник	Клінічна група			p
	1	2	3	
T max, хв	5,0/4,4;7,6	6,0/5,0;10,5	2,5/2,0;4,3	1-3: p=0,007; 2-3: p<0,001
Виведення РФП до 20 хв, %	40/28;45	25/11;34	35/25;43	1-2: p=0,014
ШКФ для окремої нирки, л/хв.	45/30;51	32/24;35	21/16;31	1-2: p=0,005; 1-3: p=0,002
ШКФ на стандартну поверхню тіла, мл/хв./м ²	95/88;101	74/69;91	67/52;87	-

Примітка: кількісні перемінні представлено як медіана/25;75 перцентилі;

Зниження кількості функціонуючої паренхіми в обох нирках у всіх пацієнтів, виявлені канальцеві зміни і вогнища склерозу у дітей з нормальними клініко-лабораторними показниками, не виключало можливості структурної неповноцінності, гемодинамічних порушень та інтерстиціального нефриту з латентним перебігом в обох нирках після перенесеного стану ГПП.

Обговорення. Представлена робота проводиться вперше в Україні, де ніколи не досліджувались показники функціонального стану нирок у хворих, що перенесли ГПП, особливо, у віддалених

термінах. Встановлено, що ГПП найчастіше зустрічалось серед дітей перших 3 років життя, переважно у хлопчиків. Етіологічним чинником виникнення ГПП у 63,3% дітей був ГУС на фоні гострої кишкової інфекції, а за віддаленими наслідками захворювання у 31,6% пацієнтів документована ХНН. Отримані нами результати по епідеміології, нозологічній і віковій структурі ГПП співпадають з дослідженнями Європейських і Американських вчених [9, 11, 14].

Незважаючи на невисоку розповсюдженість ХНН в дитячому віці, за літературними даними

від 15 до 74,7 % випадків на мільйон дітей, ступінь ушкодження і термін гострого ушкодження нирок у дітей є провідними факторами прогресування і формування ХХН [9, 11, 14]. S.L.Goldstein, P. Devaajan довели, що моніторинг функціонального стану нирок у дітей після ГПН, дозволить визначити наявність прогресування в ХХН або його відсутність і призначити профілактичне лікування [13]. За даними S. Stickle в 4% у 176 дітей, що перенесли ГПН, діагностовано зниження функції нирок, до застосування діалізу [10, 11]. D. J Skenazi вивчаючи катамнез цих хворих, встановив виживаємість до 79.9%, а у 16 хворих – термінальну ХНН [15].

За даними нашого спостереження протягом 15 років, у 30 хворих проаналізовано співвідношення показників функціонального стану нирок – креатиніну, ШКФ з рівнем альбумінурії. У 12/20,0% хворих підвищені рівні креатиніну, сечовини, ШКФ і альбумінурії на першому році захворювання, в катамнезі нормалізувались і було документоване повне одужання.

У 30,0% дітей констатовано персистенцію маркерів пошкодження нирки з відновленням функції (ШКФ>90 мл/мін), а у 18,3% – значне, стійке зниження функції (ШКФ<89 мл/мін) з наявними маркерами пошкодження нирок. Це свідчило про наявність ХХН і співпадало з тенденцією представленою зарубіжними дослідниками. Отримані дані були підтвержені результатами реносцинтиграфічного дослідження. У пацієнтів з наявними або відсутніми лабораторними маркерами пошкодження нирок значно знижувалась ЕНП станд мл/хв/м², та уповільнювався час екскреції РФП. При аналі-

зі результатів РСГ з 99mTc-ДМСА також виявлено зниження показника диференційованого поглинання препарату, майже в 2 рази зменшувався процент включення препарату в паренхіму нирок та зростала кількість ділянок склерозу паренхіми, на відміну, від показників хворих з повним клініко-лабораторним одужанням. На жаль, в іноземній літературі подібних досліджень ми не знайшли.

Висновки:

1. Гостре пошкодження нирок частіше діагностується у дітей перших 3 років життя, переважно у хлопчиків. Етіологічним чинником виникнення захворювання був гемолітико-уремічний синдром на фоні гострої кишкової інфекції.
2. Повне одужання документоване у 20,0% реконвалесцентів гострого пошкодження нирок, у 30,0% констатовано персистенцію маркерів пошкодження нирки з відновленням функції, а у 18,3% значне, стійке зниження функції нирок.
3. Багатоцільове сцинтиграфічне дослідження з радіофармпрепаратами різного типу виведення виявило ознаки порушення канальцевих та гломерулярних функцій за 7-8 років до появи лабораторних змін.

Розкриття потенційних конфліктів інтересів: автори статті підтверджують, що вони не мають конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника.

І. В. Багдасарова – ідея дослідження,

О.В. Лавренчук – забір біологічного матеріалу, аналіз результатів, оформлення тексту роботи.

М.А. Пономарева – оформлення тексту роботи.

Література (References):

1. Smirnov A.V., Dobronravov V. A., Rumiantsev A.H. Natsionalnyi rekomendatsii. Ostroe povregdenie pochetk: osnovnii printsiipi diagnostiki, profilaktiki I terapii. Nefrologia. 2016;20(1):79-104.
2. Savenkova N.D., Pankov E. A., Nereshenie problem ostrogo povregdenia pochetk u detei. Nefrologia. 2015;19(3):9-19.
3. Andreoli SP. Acute kidney injury in children. Pediatric Nephrology (Berlin, Germany). 2009;24(2):253-263. doi:10.1007/s00467-008-1074-9.
4. Ardissino G, Dacc V, Testa S, Bonaudo R, Claris-Appiani A, Taioli E, Marra G, Edefonti A, Sereni F. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the ItalKid project. Pediatrics. 2003;111:382-387.
5. Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ, Tizard EJ. Epidemiology of chronic kidney disease in children. Pediatric Nephrology (Berlin, Germany). 2012;27(3):363-373. doi:10.1007/s00467-011-1939-1.
6. Saran R, Li Y, Robinson B, Abbott KC, Agodoa LY, Ayanian J, Bragg-Gresham J, Balkrishnan R, Chen JL, Cope E, Eggers PW, Gillen D, Gipson D, Hailpern SM, Hall YN, He K, Herman W, Heung M, Hirth RA, Hutton D, Jacobsen SJ, Kalantar-Zadeh K, et al. US Renal Data System 2015 Annual Data Report: Epidemiology of Kidney Disease in the United States. Am J Kidney Dis. 2016;67(3 Suppl 1):S1-305. doi: 10.1053/j.ajkd.2015.12.014.
7. Khwaja A. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. Nephron Clin Pract. 2012;120(4):c179-84. doi: 10.1159/000339789.
8. Coca SG, Singanamala S, Parikh CR. Chronic Kidney Disease after Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-analysis. Kidney Int. 2012;81(5):442-448. doi:10.1038/ki.2011.379.
9. Wong CJ, Moxey-Mims M, Jerry-Fluker J, Warady BA, Furth SL. CKiD (CKD in Children) Prospective Cohort Study: A Review of Current Findings. Am J Kidney Dis. 2012;60(6):1002-1011. doi:10.1053/j.ajkd.2012.07.018.

10. *Furth SL, Cole SR, Moxey-Mims M, et al.* Design and Methods of the Chronic Kidney Disease in Children (CKiD) Prospective Cohort Study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2006;1(5):1006-1015. doi:10.2215/CJN.01941205.
11. Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet (London, England).* 2015;386(9995):743-800. doi:10.1016/S0140-6736(15)60692-4.
12. *Boerma T, Mathers CD.* The World Health Organization and global health estimates: improving collaboration and capacity. *BMC Med.* 2015;13:50. doi:10.1186/s12916-015-0286-7.
13. *Goldstein S. L.* Acute kidney injury in children and its potential consequences in adulthood. *Blood Purif.* 2012;33(1-3):131-7. doi: 10.1159/000334143.
14. *Chesnaye N, Bonthuis M, Schaefer F, Groothoff JW, Verrina E, Heaf JG, Jankauskiene A, Lukosiene V, Molchanova EA, Mota C, Peco-Anti A, Ratsch IM, Bjerre A, Roussinov DL, Sukalo A, et al.* Demographics of paediatric renal replacement therapy in Europe: a report of the ESPN/ERA-EDTA registry. *Pediatr Nephrol.* 2014;29(12):2403-10. doi: 10.1007/s00467-014-2884-6.
15. *Askenazi DJ, Feig DI, Graham NM, Hui-Stickle S, Goldstein SL.* 3-5 year longitudinal follow-up of pediatric patients after acute renal failure. *Kidney Int.* 2006 Jan;69(1):184-9. doi: 10.1038/sj.ki.5000032



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

I. Dudar, V. Savchuk, O. Loboda, Y. Gonchar, I. Shifris, V. Krot

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.06

The level of prolactin in patient with CKD V stage, which are treated with hemodialysis

SI «Institute of nephrology NAMS of Ukraine», Kyiv

Citation:

Dudar I, Savchuk V, O. Loboda, Y. Gonchar, I. Shifris, V. Krot. The level of prolactin in patient with CKD V stage, which are treated with hemodialysis. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):38-43. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.06

Abstract. *The prevalence of hyperprolactinemia in patients treated with hemodialysis (HD) is 30-65%.*

Aim of our work was to investigate the prolactin (PL) level in patients treated with hemodialysis.

Methods. *An open prospective, non-randomized study it was involved 43 patients with CKD in the VD stage treated with hemodialysis. Criteria for inclusion of patients in the study were informed consent of the patient to participate in the study, treatment of HD for more than three months, $Kt / V > 1.2$; vascular access - AV-fistula. The exclusion criteria were: refusal of the patient to participate in the study, liver cirrhosis, acute hepatitis B, C, hypothyroidism, acute coronary syndrome, stroke, pregnancy, patients with malignant neoplasms; those who systemically receive medications such as tricyclic antidepressants, monoamine oxidase inhibitors, reserpine, methyl dopa, phenothiazine derivatives, antiemetic drugs (zocrama metoclopramide), dopamine synthesis inhibitors, and antipsychotics. All patients were evaluated for PL in serum.*

Results. *Patients treated with HD have reported an elevated PL level in 32 (74%) patients. The level of serum PL in patients treated with HD was higher compared to the control group: 47.17 ± 32.4 versus 11.76 ± 4.33 ng/ml ($p < 0.001$). The violation of the menstrual cycle was 85% in the group of women with elevated PL compared with 20% in women with normal PL ($p < 0.05$). In groups of women and men with elevated PL level, the Hb level was significantly lower ($p < 0.05$). It was established that the level of TL had a negative correlation with the level of Hb ($r = -0.36$; $p = 0,02$) and a positive correlation between the level of TL and CRP ($r = 0,32$; $p = 0,03$).*

Conclusions. *The prevalence of hyperprolactinemia in our study was 74%. Violations of the menstrual cycle were significantly more common in women with hyperprolactinemia (85% vs. 20%). The increase in the concentration of PL has a negative correlation with the level of Hb and a positive correlation with the level of CRP, which suggests the involvement of PB in the processes of chronic inflammation*

Article history:

Received 26 July 2018

Received in revised form

13 August 2018

Accepted 20 August 2018

Key words: *chronic kidney disease, hemodialysis, prolactin.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© I. Dudar, V. Savchuk, O. Loboda, Y. Gonchar, I. Shifris, V. Krot, 2018.

Correspondence should be addressed to Irina Dudar: irina_d@ukr.net



© Дудар І.О., Савчук В.М., Лобода О.М., Гончар Ю.І., Шіфріс І.М., Крот В.Ф., 2018

УДК: 616.61-036.12-055.2:612.662.9]-085.38-07:618.344-07

І.О. Дудар, В.М. Савчук, О.М. Лобода, Ю.І. Гончар, І.М. Шіфріс, В.Ф. Крот

Рівень пролактину у пацієнтів з ХХН V стадії, які лікуються гемодіалізом

Державна установа «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ

Резюме: Розповсюдженість гіперпролактинемії у пацієнтів, які лікуються гемодіалізом (ГД), становить 30-65%.

Метою нашої роботи було дослідити рівень пролактину (ПЛ) у пацієнтів з хронічною хворобою нирок (ХХН) V стадії, які лікуються ГД.

Матеріали та методи. Відкрите проспективне нерандомізоване дослідження за участю 43 пацієнтів з ХХН VД стадії, які лікуються гемодіалізом. Критеріями включення пацієнтів до дослідження були: інформована згода хворого прийняти участь у дослідженні, лікування ГД понад трьох місяців, $Kt/V > 1,2$; судинний доступ АВ-фістула. Критеріями виключення були: відмова хворого від участі у дослідженні, цироз печінки, гострі гепатити В, С, гіпотиреоз, гострий коронарний синдром, гостре порушення мозкового кровообігу, вагітність, пацієнти з злякисними новоутвореннями; ті хто, системно отримує такі медикаменти, як трициклічні антидепресанти, інгібітори моноамінооксидази, резерпін, метилдопу, похідні фенотіазину, протиблювотні препарати (зокрема метоклопрамід), інгібітори синтезу дофаміну, нейролептики. Всім хворим проводили визначення ПЛ в сироватці крові.

Результати. У хворих, які лікуються ГД констатовано підвищений рівень ПЛ у 32 (74%) пацієнтів. Рівень ПЛ сироватки крові у хворих, які лікуються ГД, був вищим порівняно з групою контролю: $47,17 \pm 32,4$ проти $11,76 \pm 4,33$ нг/мл ($p < 0,001$). Порушення місячного циклу склало 85% у групі жінок з підвищеним рівнем ПЛ проти 20% у жінок з нормальним рівнем ПЛ ($p < 0,05$). У групах жінок та чоловіків з підвищеним рівнем ПЛ достовірно нижчий рівень Нв ($p < 0,05$). Встановлено, що рівень ПЛ мав негативний кореляційний зв'язок з рівнем Нв ($r = -0,36$; $p = 0,02$) та позитивний кореляційний зв'язок між рівнем ПЛ та СРБ ($r = 0,32$; $p = 0,03$).

Висновки. Розповсюдженість гіперпролактинемії в нашому дослідженні склала 74%. Порушення менструального циклу зустрічалося достовірно частіше у жінок з гіперпролактинемією (85% проти 20%). Підвищення концентрації ПЛ має негативний зв'язок з рівнем Нв та позитивний зв'язок з рівнем СРП, що дозволяє припускати причетність ПЛ до процесів хронічного запалення.

Ключові слова: хронічна хвороба нирок, гемодіаліз, пролактин.

Вступ. Згідно офіційних даних станом у 2017 році в Україні зареєстровано більш ніж 6,7 тис. хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН), які отримують лікування гемодіалізом (ГД) [1]. За даними наукової літератури поширеність гіперпролактинемії у хворих на ХХН становить від 30% до 65% [2, 3]. За умови ХХН продукція та елімінація пролактину (ПЛ) змінюються. Відмічають негативну кореляцію між рівнями швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) та ПЛ, індексом маси тіла (ІМТ) та ПЛ, рівнем фосфору і кальцію та ПЛ, а також між низьким рівнем альбуміну і гемоглобіну та ПЛ [2, 3].

Метою нашої роботи було дослідити рівень пролактину у пацієнтів з ХХН VД стадії, які лікуються гемодіалізом.

Матеріали та методи дослідження. Відкрите проспективне обсерваційне дослідження за участю 43 пацієнтів з ХХН VД стадії, які лікуються гемодіалізом.

Критеріями включення пацієнтів до дослідження були: інформована згода хворого на участь у дослідженні, лікування ГД понад три місяці, $Kt/V > 1,2$; судинний доступ АВ-фістула.

Критеріями виключення були: відмова хворого від участі у дослідженні, цироз печінки, гострі гепатити В, С, гіпотиреоз, гострий коронарний синдром, гостре порушення мозкового кровообігу, вагітність, злякисні новоутворення, прийом трициклічних антидепресантів, інгібіторів моноамінооксидази, резерпіну, метилдопи, похідних фенотіазину, протиблювотних засобів (зокрема метоклопрамід), інгібіторів синтезу дофаміну, нейролептиків.

Верифікація діагнозу ХХН та обсяг обстежень проведені за рекомендаціями K/DOQI (Kidney Disease OutcomesQualityInitiative, 2002); наказами МОЗ України №65/462 від 30.09.2003, № 593/2004, № 23/2005, № 43/2006, № 330/2007, протоколами надання медичної допомоги за спеціальністю «Нефрологія» (наказ МОЗ № 593/2004). Крім того, всім хворим визначали рівні ПЛ, тиреотропного гормону (ТТГ). Також проведено опитування пацієнток з приводу наявних порушень менструального циклу.

Рівні ПЛ та ТТГ визначали імунохімічним методом з електрохемілюмінесцентною детекцією. Результати порівнювались з показниками рівня ПЛ

Дудар Ірина Олексіївна

irina_d@ukr.net

у 20 здорових осіб, які за віком відповідали групі обстежуваних пацієнтів.

Забір крові на визначення рівня ПЛ проводився до початку сеансу ГД не пізніше ніж через 2 години після пробудження зранку, напередодні були виключені фізичні, психоемоційні перевантаження, статеве життя.

Після обстеження пацієнти, які лікуються ГД, в залежності від статі та рівня ПЛ були розділені на 4 групи: жінки з підвищеним та нормальним рівнем ПЛ, чоловіки з підвищеним та нормальним рівнем ПЛ.

Під час виконання роботи дотримані принципи біоетики, законодавчих норм та вимог щодо проведення біомедичних досліджень.

Статистичне опрацювання результатів дослідження проводили за допомогою Microsoft Office Excel 2006 та пакету STATISTICA for Windows 6.0 (Statsoft Inc., США).

Результати дослідження. Середній вік хворих становив $41,2 \pm 9,1$ р. (від 27 до 70 років). За статтю розподіл хворих був наступним: 20 хворих чоловічої (47 %) та 23 хворих жіночої статі (53%). Тривалість лікування ГД становила від 4-ох місяців до $5,8 (2,57 \pm 1,6)$ років, рівень С реактивного білку (СРБ) $8,93 \pm 5,3$ мг/л, феритин 233 (168; 423) нг/мл, % насичення трансферину (% НСТ) $21,86 \pm 48,2\%$, ІМТ $23,3 \pm 3,43$ кг/м², ТТГ $2,59 \pm 0,56$ мМО/л, гемоглобін (Нв) $93,6 \pm 13,6$ г/л. За нозологією недіабетичні захворювання склали 93% (n = 40), діабетичні захворювання 7% (n = 3). Підвищений рівень ПЛ був у 32 (74,4%) пацієнтів, з них жінок – 17 (53 %), чоловіків – 15 (47 %).

Клініко-лабораторні показники хворих, які лікувалися ГД представлені у таблицях 1-2.

Таблиця 1

Рівень сироваткового пролактину у ГД хворих порівняно з групою контролю

Показник	Контроль n = 20	Хворі з ХХН n = 43	p
Пролактин, нг/мл	$11,76 \pm 4,33$	$47,17 \pm 32,4$	< 0,001

Таблиця 2

Клінічна характеристика досліджуваних пацієнтів залежно від статі

Показник	чоловіки n = 20	жінки n = 23
Гемоглобін, г/л	$98,3 \pm 3,57^*$	$89,59 \pm 2,22^*$
Вік, роки	$43,55 \pm 2,27$	$39,2 \pm 1,57$
Тривалість ГД, роки	$2,16 \pm 0,26$	$2,93 \pm 0,38$
ІМТ, кг/м ²	$24,05 \pm 0,80$	$22,78 \pm 0,67$
СРБ, мг/л	$8,15 \pm 1,1$	$9,61 \pm 1,17$
Феритин, нг/мл	$270,6 \pm 28,5$	$297,3 \pm 36,6$
%НСТ	$23,4 \pm 1,15$	$20,52 \pm 0,87^*$
ТТГ, мМО/л	$2,23 \pm 0,16$	$2,91 \pm 0,13$
Пролактин, нг/мл	$34,22 \pm 5,14$	$58,44 \pm 7,42^*$

Примітка: дані представлені у вигляді $M \pm m$, *p<0,05

Як представлено у таблиці 2, рівень Нв та % НСТ достовірно вищий у чоловіків, ніж у жінок, що зумовлено скоріше за все наявними менструальними крововтратами у жінок враховуючи їх середній вік $39,2 \pm 1,6$ років. Достовірно вищою була концентрація ПЛ у жінок, які лікуються ГД, порівняно з чоловіками.

Порушення менструального циклу відмічалось у 57 % жінок (13 осіб).

У подальшому був проведений аналіз у групах жінок та чоловіків з нормальним рівнем ПЛ та підвищеним рівнем ПЛ (табл. 3).

Таблиця 3

Аналіз показників серед чоловіків та жінок у групах з підвищеним та нормальним ПЛ

Показник	жінки		чоловіки	
	підвищеним ПЛ n = 18	з нормальним ПЛ n = 5	підвищеним ПЛ n = 15	нормальним ПЛ n = 5
Гемоглобін, г/л	$85,0 \pm 1,5$	$105,8 \pm 2,9^*$	$91,1 \pm 2,5$	$115,0 \pm 6,7^{**}$
Вік, роки	$37,8 \pm 1,43$	$44,2 \pm 4,86$	$44,2 \pm 2,93$	$41,83 \pm 3,47$

Продовження таблиці 3

Показник	жінки		чоловіки	
	підвищеним ПЛ n = 18	з нормальним ПЛ n = 5	підвищеним ПЛ n = 15	нормальним ПЛ n = 5
Тривалість ГД, роки	2,99 ± 0,47	2,70 ± 0,59	2,12 ± 0,34	2,25 ± 0,43
ІМТ, кг/м ²	22,27 ± 0,8	24,6 ± 0,74	23,6 ± 1,07	25,0 ± 1,0
СРБ, мг/л	10,66 ± 1,37	5,08 ± 1,24	9,5 ± 1,35	5,0 ± 1,15
Феритин, нг/мл	320,83 ± 44,6	212,8 ± 34,6	297,4 ± 37,6	208,0 ± 24,2
НСТ, %	20,77 ± 1,05	19,6 ± 1,43	22,57 ± 1,29	25,3 ± 2,33
ТТГ, мМО/л	3,14 ± 0,11	2,06 ± 0,12*	2,25 ± 0,25	2,17 ± 0,23
Пролактин, нг/мл	69,38 ± 7,64	19,08 ± 1,94*	43,07 ± 5,92	13,55 ± 0,51**
Порушення менструального циклу	12 (85%)	1 (20%)*	-	-

*p<0,05 між групами жінок з підвищеним та нормальним рівнями ПЛ

**p<0,05 між групами чоловіків з підвищеним та нормальним рівнями ПЛ

З табл. 3 видно, що серед жінок у групі з підвищеним рівнем ПЛ достовірно вищим був рівень ТТГ $3,14 \pm 0,11$ мМО/л проти $2,06 \pm 0,12$ мМО/л ($p < 0,05$) та нижчим рівень Нв $85,0 \pm 1,5$ г/л проти $105,8 \pm 2,9$ г/л ($p < 0,05$). У Більшій частині жінок (85%) з підвищеним рівнем пролактину були зафіксовані порушення менструального циклу. У чоловіків з підвищеним ПЛ був нижчим рівень Нв

$91,1 \pm 2,5$ г/л проти $115,0 \pm 6,7$ г/л ($p < 0,05$). Групи були ідентичними за віком, статтю, тривалістю лікування ГД, ІМТ, %НСТ, феритином, СРБ.

Наступним етапом нашої роботи було вивчення зв'язку між рівнями ПЛ і Нв. Встановлено, що ПЛ мав негативний кореляційний зв'язок з рівнем Нв ($r = -0,36$; $p = 0,02$) (рис. 1).

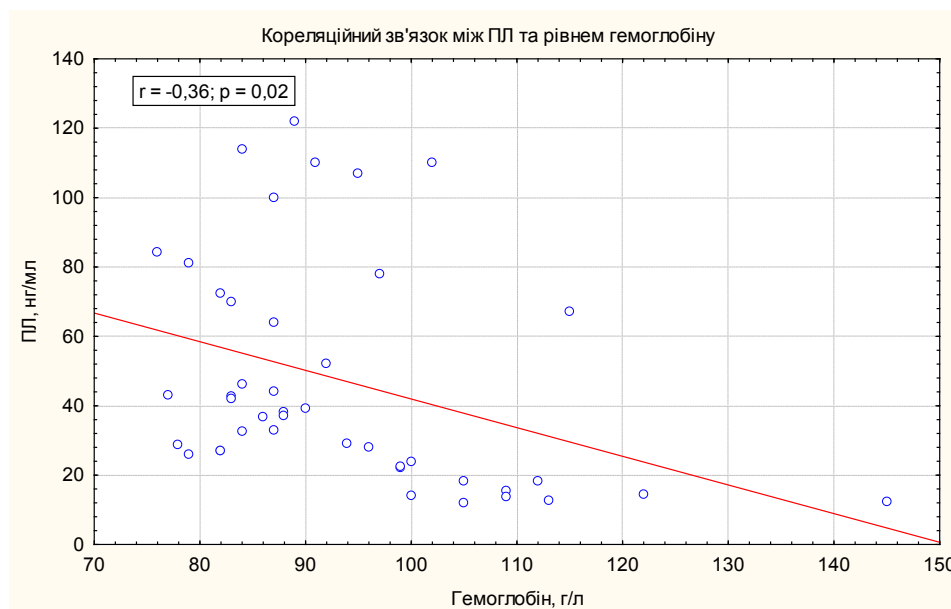


Рис. 1. Кореляційний зв'язок між рівнем ПЛ та рівнем гемоглобіну в крові хворих, які лікуються ГД.

Встановлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем ПЛ та СРБ ($r = 0,32$; $p = 0,03$) (рис. 2).

Обговорення. В нашому дослідженні підвищений рівень ПЛ було констатовано у 74% пацієнтів, що перевищує розповсюдженість (30-60%)

гіперпролактинемії у хворих на ГД за даними літератури [2, 3]. Це може бути обумовлене невеликою популяцією пацієнтів, яка досліджувалася, та потребує більш масштабних досліджень.

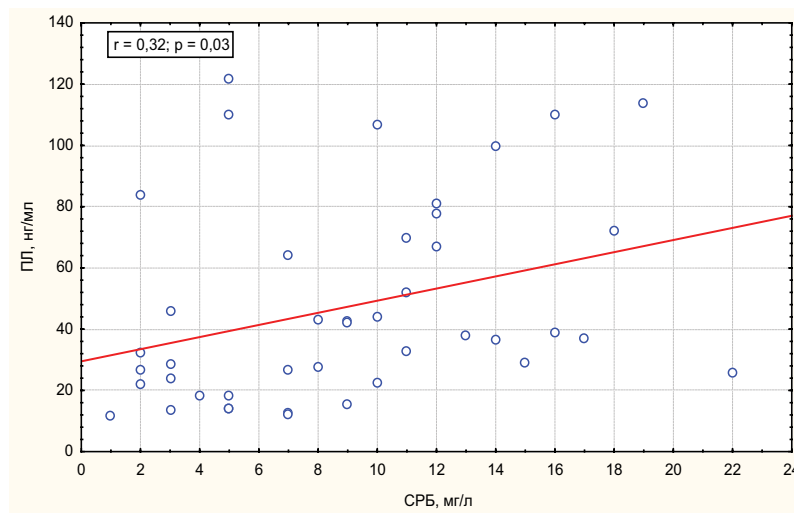


Рис. 2. Кореляційний зв'язок між рівнем ПЛ та рівнем СРБ в крові хворих, які лікуються ГД.

У пацієнтів з ХХН помірна ГПЛ пов'язана з порушенням виведення нирками ПЛ, розладами центральної регуляції секреції ПЛ та використанням деяких ліків [2, 3]. Доведено, що у хворих, які лікуються ГД, приблизно у 3 рази вища секреція ПЛ порівняно зі здоровими особами, що, імовірно, обумовлено зниженням здатності дофаміну пригнічувати секрецію ПЛ за рахунок конкурентного зв'язування уремічних токсинів з дофаміном, рецепторами до дофаміну або з пострецепторними порушеннями. Медикаментозно-індукована ГПЛ виникає при застосуванні метоклопраміду, респіритону, феритиазинів за рахунок антидофамінових ефектів цих препаратів. У середньому при прийомі антипсихотичних ліків ГПЛ зустрічається у 38-81% пацієнтів, верапамілу – 8,5%, оральних контрацептивів з високими дозами естрогенів - 12-30% [4].

Встановлено, що при ГПЛ відмічається порушення пульсуючої секреції гонадотропних гормонів (ГТГ), зокрема зміна частоти імпульсів лютеїнізуючого гормону (ЛГ), резистентність яєчникових рецепторів до ЛГ, зменшення синтезу прогестерону клітинами гранульози, пригнічення залежної від фолікулоstimулюючого гормону оваріальної ароматази, що викликає зниження продукції естрогену. У чоловіків ГПЛ веде до посилення проявів гіпогонадизму, дефіциту тестостерону (Тс), який пов'язаний зі зростанням індексу маси тіла (ІМТ), виникненням атеросклеротичної бляшки, запаленням, серцево-судинними захворюваннями (ССЗ), смертністю, виникненням гінекомастії і сексуальної дисфункції [4]. У жінок ГПЛ викликає галакторею і порушення менструального циклу, часто аменорею. До того ж, ПЛ регулює секрецію надниркових андрогенів, тому до 40% хворих з ГПЛ мають порушення секреції і метаболізму андрогенів, що веде до клінічних проявів гіперандрогенії (гірсутизму і акне), формуванню склерокістозних яєчників [4].

На даний час мало відомо про наслідки ГПЛ у пацієнтів з ХХН. У деяких дослідженнях відмічали

негативну кореляцію між рівнями ПЛ та швидкістю клубочкової фільтрації, ПЛ та рівнем фосфору і кальцію, ПЛ та низьким альбуміном і ПЛ та рівнем гемоглобіну (Hb) [3]. In vitro ПЛ моделював запальну реакцію, стимулював адгезію мононуклеарних клітин до ендотелію та посилював проліферацію м'язових клітин у судинах. В одному з досліджень показано збільшення ризику серцево-судинних подій у недіалізованих пацієнтів на 27% на кожні на 10 нг/мл підвищення ПЛ (відношення ризиків [HR], 1,27, довірчий інтервал 95% [95% ДІ], 1,17-1,38). Аналогічним чином, ризик смертності від усіх причин і ССЗ у пацієнтів на ГД зріс на 12% (HR, 1,12, 95% ДІ, 1,06-1,17) і 15% (HR, 1,15, 95% ДІ, 1,08-1,21), відповідно. Рівні ПЛ, безпосередньо пов'язані з ендотеліальною дисфункцією/жорсткістю міокарду, підвищеним ризиком серцево-судинних подій при ХХН. Підвищена експресія рецепторів ПЛ була виявлена в атеросклеротичних бляшках людини. У попередніх дослідженнях на свинях продемонстровано регіональні вазоконстрикторні ефекти ПЛ через β 2-адренергічні рецептори та оксид азоту, чим і пояснюють підвищений серцево-судинний ризик при ГПЛ. Окисний стрес пов'язаний з розщепленням ПЛ на антиангіогенну, проапоптотичну і прозапальну 16-kD-форму, яка може ініціювати ускладнення пов'язані з атеросклерозом. Гіперпролактинемія також може бути наслідком зниженої допамінергічної активності, яка приводить до вивільнення норепінефрину і несприятливо впливає на ендотеліальну дисфункцію, сприяє гіпертрофії міокарду, АГ та ін. ССЗ [3, 5]. Часто підвищення рівня ПЛ відмічається при гіпертонічній хворобі, ішемічних інсультах, транзиторних ішемічних атаках, прееклампсії, під час гострої фази коронарного синдрому, відіграє роль у розвитку серцевої недостатності, супроводжує післяпологову кардіоміопатію [5]. Рівні ПЛ часто передбачали основні серцево-судинні події у чоловіків з еректильною дисфункцією. Кілька не-

давно проведених досліджень демонструють, що підвищений ПЛ приймає участь у формуванні резистентності до інсуліну.

ГПЛ може посилювати прояви гіпогонадізму. Корекція її бромкриптином відновлює менструальну функцію. При тривалій медикаментозно-індукованій ГПЛ з гіпогонадізмом та остеопорозом рекомендоване призначення препаратів естрогену чи Тс [6].

Виявлені у ГД хворих негативний кореляційний зв'язок рівнів гемоглобіну та ПЛ та позитивний кореляційний зв'язок СРБ з ПЛ вказують на можливу роль, яку відіграють гормональні порушення у діалітичних хворих в розвитку анемії та процесів хронічного запалення. Все це потребує подальшого вивчення.

Висновки:

Розповсюдженість гіперпролактинемії у хворих на ХХН V ГД становить 74%.

Порушення менструального циклу діагностується достовірно частіше у жінок з гіперпролактинемією (85% проти 20%), що свідчить про пригнічення оваріально-менструального циклу та необхідності корекції та подальшого вивчення.

Підвищення концентрації ПЛ має негативний зв'язок з рівнем Нв та позитивний зв'язок з рівнем СРП, що вказує на причетність ПЛ до процесів хронічного запалення.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника:

І.О. Дудар: концепція та дизайн дослідження,

В.М. Савчук: аналіз отриманих даних,

О.М. Лобода: аналіз отриманих даних,

Ю.І. Гончар: оформлення тексту роботи,

І.М. Шіфріс: оформлення тексту роботи,

В.Ф. Крот: підготовка статті до друку.

Література (References):

1. *Kolesnyk MO*, редактор. Natsionalnyi reiestr khvorykh na khronichnu khvorobu nyrok ta patsientiv z hostryim poshkodzhenniam nyrok: 2017 rik. Kyiv; 2018. 183 s. [In Ukrainian].
2. *Palmer BF*. Sexual dysfunction in men and women with chronic kidney disease and end-stage kidney disease. *ACKD*. 2003;10(1):48-60. doi: 10.1053/jarr.2003.50003
3. *Nehru D, Kandasamy S, Chandramouli RK, Muthumani L*. Evaluation of serum prolactin level in chronic kidney disease. *Asian J Pharm Clin Res*. 2016; 9(4):201-203.
4. *Melmed S, Casanueva FF, Hoffman AR, Kleinberg DL, Montori VM, Schlechte JA, Wass JAH*. Diagnosis and treatment of hyperprolactinemia: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2011;96(2):273-88. doi: 10.1210/jc.2010-1692.
5. *Lakshmi D, Meera KS, Mahesh E*. Serum prolactin level and inflammation in chronic kidney disease. *International Journal Of Biochemistry Research & Review*. 2016;14(1):1-9. doi: 10.9734/IJBCRR/2016/29218
6. *Lo JC, Beck GJ, Kaysen GA*. Hyperprolactinemia in end stage renal disease and effects of frequent hemodialysis. *Hemodial Int*. 2017;21(2):190-196. doi: 10.1111/hdi.12489.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;

eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

L.V. Korol, N.M. Stepanova, O.V. Lavrenchuk, L.Ya. Migal

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.07

Age-related oxidative stress in patients with pyelonephritis

SI «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»

Citation:

Korol LV, Stepanova NM, Lavrenchuk OV, Migal LYa. Age-related oxidative stress in patients with pyelonephritis. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):44-49. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.07

Abstract. *The objective of the present study was to compare age-related oxidative stress in pediatric and adult patients with pyelonephritis.*

Methods. *This research is focused on the age features of change of oxidant-antioxidant parameters and intensity of oxidative stress (OS) in the blood of 252 adults and 123 of pediatric patients with pyelonephritis. The control group consisted of 68 healthy donors of the same age. Along with the standard diagnostic methods, we defined the content of malonic dialdehyde in serum and erythrocytes, the content of ceruloplasmin, transferrin and SH-groups in the blood serum, the index of the OS, activity of glutathione reductase, glutathione peroxidase and total peroxidase activity in erythrocyte. Statistical analysis was performed using the programs Statistica 10 for Windows and “MedCalc”.*

Results. *Our results confirmed the increase of concentration of malondialdehyde and protein carbonil groups in the blood and decrease of antioxidant markers, namely: concentration of transferrin, different factions of thiol groups, the total peroxidase activity in erythrocyte, and the activity of glutathione reductase and glutathione peroxidase. The increase of the activity of the oxidation of lipids and proteins due to lower indices of antioxidant protection (content of transferrin, thiol groups, the total peroxidase activity in erythrocyte, the activity of glutathione reductase and glutathione peroxidase) was characteristic for patients with chronic pyelonephritis. The highest intensity of OS and concentration ceruloplasmin in serum, were observed in the acute pyelonephritis. The highest activity of lipid peroxidation and low antioxidant protection of the blood are characteristic of pediatric patients.*

Conclusions. *Thus, the intensification of OS depends on the age of the patients with pyelonephritis.*

Keywords: *oxidative stress, antioxidant system, pyelonephritis, patient age.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© L.V. Korol, N.M. Stepanova, O.V. Lavrenchuk, L.Ya. Migal, 2018.

Correspondence should be addressed to Lesya Korol: lesyakorol@meta.ua

Article history:

Received 03 August 2018

Received in revised form

20 August 2018

Accepted 30 August 2018



© Король Л.В., Степанова Н.М., Лавренчук О.В., Л.Я. Мигаль, 2018

УДК 616.61-0002.3-036.12

Л.В. Король, Н.М. Степанова, О.В. Лавренчук, Л.Я. Мигаль

Вікові особливості оксидативного стресу у пацієнтів з пієлонефритом

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

Резюме. Метою нашої роботи було порівняти показники оксидативного стресу дітей та дорослих хворих на пієлонефрит.

Методи. Це дослідження зосереджено на вікових особливостях змін оксидантно-антиоксидантних параметрів та інтенсивності оксидативного стресу (ОС) у крові 252 дорослих та 123 дітей з пієлонефритом. Контрольну групу склали 68 здорових донорів одного віку та статі. Поряд із стандартними діагностичними методами визначали концентрації малонового діальдегіду у сироватці крові та еритроцитах, церулоплазмину, трансферину та SH-груп у сироватці крові, визначали активність глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та загальну активність пероксидази в еритроцитах, розраховували індекс ОС. Статистичний аналіз проводився за допомогою програм Statistica 10 для Windows та «MedCalc».

Результати дослідження підтвердили підвищення концентрації малонового діальдегіду і карбонільних груп білків у крові та зниження антиоксидантних маркерів, а саме: концентрації трансферину, різних фракцій тіолових груп, загальної пероксидазної активності в еритроцитах, активності глутатіонредуктази і глутатіонпероксидази. Збільшення активності окислення ліпідів та білків на тлі зниження показників антиоксидантного захисту характерне для пацієнтів з хронічним пієлонефритом. Найбільша інтенсивність ОС та концентрація церулоплазмину в сироватці спостерігалася у дорослих пацієнтів з гострим пієлонефритом. Найвища активність перекисного окислення ліпідів та низький рівень антиоксидантного захисту крові характерні для педіатричних пацієнтів.

Висновки. Таким чином, інтенсифікація ОС залежить від віку пацієнтів.

Ключові слова: оксидативний стрес, антиоксидантна система, пієлонефрит, вік пацієнтів.

Вступ. На сьогодні відомо, що процеси окиснення – це частина багатьох життєво важливих процесів в організмі людини [1, 2]. Активація процесів окиснення є універсальним механізмом розвитку типових патологічних процесів й усіх пов'язаних з ними захворювань нирок, особливо запального генезу, оскільки ураження нирки відбувається внаслідок прямої дії бактерій, гіпоксії або запальної реакції [3-5]. Утворення активних метаболітів кисню (АМК) також є активним захисним механізмом, основою неспецифічного імунітету; фагоцитоз призводить до багаторазового збільшення вмісту вільних радикалів у фагоцитуючих клітинах з одночасним підвищенням споживання кисню [2]. Моноцити та макрофаги, що мігрують до тканин у відповідь на дію імунних комплексів, здатні також продукувати АМК, що призводять до пошкодження клітин нирок [6-9]. Несподівано блокування процесів окиснення підсилює негативний вплив АМК на клітини нирок та сприяє розвитку оксидативного стресу (ОС) [7, 8, 10].

Пієлонефрит (ПН) являє собою бактеріально-обумовлене запалення інтерстицію нирок з формуванням рубців і наступним ураженням усіх структур нефрона [4, 6]. За умов розвитку запалення надмірне утворення перекисних радикалів, які вступають у взаємодію з різними клітинними компонентами, призводить до часткового руйнування клітинних

структур, а утворені активні метаболіти кисню вражають не тільки бактерії, але, ініціюючи процеси окиснення, ушкоджують тканини нирки.

Метою роботи було визначити вікові особливості інтенсивності ОС у хворих на ПН.

Матеріал і методи дослідження. В роботі проаналізовані результати дослідження показників ОС у крові у 108 пацієнтів з гострим ПН та 267- з хронічним ПН без порушення функції нирок. Серед обстежених хворих було 252 дорослих пацієнта віком від 18 до 55 років та 123 дитини віком від 5 до 14 років, які перебували на обстеженні та лікуванні Державній установі «Інститут нефрології НАМН України». Результати порівнювали з даними контрольної групи, яку склали 40 дорослих осіб віком від 18 до 55 років та 28 дітей (віком від 5 до 14 років).

Під час виконання роботи дотримувалися правил безпеки пацієнтів, збережені права пацієнтів, а також морально-етичні норми у відповідності до основних положень GSP (1996 р.), конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000 рр.) і наказу МОЗ України № 281, № 523, етичного кодексу ученого України (2009 р.). Усі пацієнти надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Протокол дослідження був схвалений Комісією з біоетики та деонтології ДУ «Інститут нефрології НАМН України».

Критеріями включення пацієнтів у дослідження були: наявність клінічних ознак захворювання (дизурія, часте сечовипускання, підвищення температури тіла, відчуття болю і тяжкості в костовертебральних

Король Леся Вікторівна
lesyakorol@meta.ua

кутку і інші), лейкоцитурія і бактеріурія. Критеріями виключення були: відмова хворого від участі в дослідженні, вагітність і період лактації, ознаки обструкції сечової системи, зниження швидкості клубочкової фільтрації <60 мл / хв.

У 60 пацієнтів діагностовано з гострий ПН, за який вважали перший епізод бактеріально-обумовленого ураження інтерстицію нирки. У 188 пацієнтів діагностовано хронічний ПН.

Кількісне визначення бактерій проводили шляхом посіву матеріалу на тверді поживні середовища – кров'яний агар та агар Сабуро за Родманом. Чутливість бактерій до антибіотиків визначали методом стандартних дисків.

Комплекс обстеження, окрім загальноприйнятих методик, включав визначення в сироватці крові концентрації малонового діальдегіду (МДАс), карбонільних груп протеїнів (КГПс), церулоплазмину (ЦПС), трансферину (ТРС) та сульфгідрильних (SH) груп [11], у еритроцитах визначали: концентрацію МДА (МДАе), карбонільних груп гемоглобіну (КГПе), сумарну пероксидазну активність (СПАе), активність глутатіонредуктази (ГРе) і глутатіонпероксидази (ГПе). Розрахунок ІОС в сироватці крові

проводили за наступною формулою: $IOС = [(MДАx / MДАк + KГПx / KГПк) / 2] : [(ЦПx / ЦПк + ТРx / ТРк + SHx / SHк) : 3]$, де ІОС – індекс оксидативного стресу; МДАх – концентрація МДА в крові у хворого; МДАк – концентрація МДА в крові у пацієнтів в контрольній групі (середнє значення), КГПх – концентрація КГП в крові у хворого; КГПк – концентрація КГП в крові у пацієнтів контрольної групи (середнє значення) ЦПх – концентрація ЦП в крові у хворого; ЦПк – концентрація ЦП в крові у пацієнтів контрольної групи (середнє значення) ТРх – концентрація ТР в крові у хворого; ТРк – концентрація ТР в крові у пацієнтів контрольної групи (середнє значення) SHх – концентрація SH-груп в крові у хворого; SHк – концентрація SH-груп в крові у пацієнтів контрольної групи (середнє значення) [12].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програм «Statistica 10 for Windows» і «MedCalc».

Результати дослідження. Аналіз отриманих даних продемонстрував збільшення інтенсивності ОП та зміни складових системи АОЗ у пацієнтів з ПН порівняно з умовно-здоровими донорами (табл. 1, 2).

Таблиця 1

Показники активності процесів оксидатії у крові хворих на пієлонефрит

Показники (M±m)	Дорослі (вік 18-55 років)			P ₁₋₂	Діти (вік 5-14 років)			P ₃₋₄ P ₁₋₃ P ₂₋₄	
	Контрольна група	Гострий ПН	Хронічний ПН		Контрольна група	Гострий ПН	Хронічний ПН		
	n = 40	1 група n = 60	2 група n = 188		n = 28	3 група n = 58	4 група n = 92		
Сироватка крові	МДАс (мкМ)	128,20 ± 21,20	372,40 ± 20,20 рк<0,01	269,30 ± 11,40 рк<0,01	P ₁₋₂ <0,01	117,21 ± 28,56	488,54 ± 24,23 рк<0,01	415,45 ± 17,34 рк<0,01	P ₃₋₄ <0,02 P ₁₋₃ <0,01 P ₂₋₄ <0,001
	КГПс (мкМ)	1,132 ± 0,182	1,960 ± 0,170 рк<0,01	1,795 ± 0,233 рк<0,01		1,090 ± 0,780	1,922 ± 0,288	1,260 ± 0,257	
Еритроцити	МДАе(мкМ)	549,30 ± 30,20	798,51 ± 22,30 рк<0,01	626,41 ± 24,33 рк<0,05	P ₁₋₂ <0,01	518,45 ± 33,96	659,45 ± 37,38 рк<0,01	688,78 ± 25,56 рк<0,01	P ₁₋₃ <0,01
	КГПе (ум/г)	0,709 ± 0,018	1,108 ± 0,038	1,048 ± 0,009		0,778 ± 0,207	1,255 ± 0,078	0,999 ± 0,076	

Примітки: *рк<0,05 - вірогідна різниця з показниками у контрольній групі умовно-здорових осіб; p1-2 <0,05- вірогідна різниця між показниками у групах.

Таблиця 2

Показники антиоксидантного захисту у крові на пієлонефрит

Показники (M ± m)	Дорослі (вік 18-55 років)			P ₁₋₂	Діти (вік 5-14 років)			P ₃₋₄ P ₁₋₃ P ₂₋₄		
	Контрольна група	Гострий ПН	Хронічний ПН		Контроль на група	Гострий ПН	Хронічний ПН			
	n = 40	1 група n = 60	2 група n = 188		n = 28	3 група n = 58	4 група n = 92			
Сироватка	ЦПС (г/л)	0,218 ± 0,010	0,304 ± 0,020 рк<0,01	0,201 ± 0,021	P ₁₋₂ <0,01	0,226 ± 0,038	0,259 ± 0,015	0,192 ± 0,012	P ₃₋₄ <0,001 P ₁₋₃ <0,01 P ₂₋₄ <0,01	
		ТРС (г/л)	4,162 ± 0,08	5,778 ± 0,502 рк<0,01		2,957 ± 0,218 рк<0,02	P ₁₋₂ <0,01	4,236 ± 0,767		5,328 ± 0,178 рк<0,05
	SH (мМ)	загальні	2,218 ± 0,018	1,918 ± 0,009 рк<0,05	1,876 ± 0,027 рк<0,02		2,088 ± 0,120	1,846 ± 0,020	1,742 ± 0,045	
		небілкові	0,778 ± 0,086	0,588 ± 0,027	0,609 ± 0,056 рк<0,05		0,760 ± 0,045	0,618 ± 0,056 рк<0,05	0,586 ± 0,045 рк<0,02	
		білкові	1,440 ± 0,034	1,328 ± 0,220	1,378 ± 0,034		1,338 ± 0,090	1,239 ± 0,042	1,168 ± 0,154	

Продовження таблиці 2

Показники (M ± m)		Дорослі (вік 18-55 років)			P ₁₋₂	Діти (вік 5-14 років)			P ₃₋₄ P ₁₋₃ P ₂₋₄	
		Контрольна група	Гострий ПН	Хронічний ПН		Контрольна група	Гострий ПН	Хронічний ПН		
1	2	n = 40	1 група n = 60	2 група n = 188		n = 28	3 група n = 58	4 група n = 92		
Еритроцити	SH (мм)	загальні	21,222 ± 1,108	16,958 ± 0,118 рк<0,05	15,037 ± 0,517 рк<0,02	P ₁₋₂ <0,05	22,584 ± 2,176	18,423 ± 0,779 рк<0,05	15,875 ± 0,585 рк<0,01	P ₃₋₄ < 0,05
		небілкові	5,278 ± 0,980	3,722 ± 0,248	3,510 ± 0,218 рк<0,05		5,219 ± 0,779	4,650 ± 0,378	3,788 ± 0,206 рк<0,01	P ₃₋₄ < 0,05 P ₁₋₃ < 0,05
		білкові	15,94 ± 0,956	13,259 ± 0,222 рк<0,05	11,527 ± 0,186 рк<0,01	P ₁₋₂ <0,05	17,365 ± 1,672	13,752 ± 0,578 рк<0,01	12,088 ± 0,478 рк<0,01	P ₃₋₄ < 0,05
	СПАе (мккат/г Нб)	7,622 ± 0,342	7,358 ± 0,158	6,342 ± 0,188 рк<0,01	P ₁₋₂ <0,01	7,933 ± 0,497	5,583 ± 0,333 рк<0,01	5,029 ± 0,183 рк<0,01	P ₁₋₃ <0,01 P ₂₋₄ < 0,01	
	ГРе (нкат/гНб)	25,338 ± 0,337	28,333 ± 3,334	18,102 ± 0,167 рк<0,01	P ₁₋₂ <0,01	23,579 ± 0,416	23,327 ± 1,328	17,825 ± 4,133 рк<0,01	P ₃₋₄ < 0,05 P ₂₋₄ < 0,05	
	ГПе (мккат/г Нб)	5,702 ± 0,188	6,209 ± 0,26	5,047 ± 0,109 рк<0,01	P ₁₋₂ <0,01	5,576 ± 0,366	4,266 ± 0,316 рк<0,05	5,033 ± 0,415	P ₁₋₃ <0,01	

Примітки: *рк<0,05- вірогідна різниця з показниками у віковій контрольній групі умовно-здорових осіб; р1-2, 2-4, 1-3, 3-4<0,05- вірогідна різниця між показниками у групах

Так, в крові хворих на ПН спостерігається зростання концентрації продуктів окиснення (МДА і КГП) та змінюються параметри АОЗ. Аналіз стану О/А балансу крові у дітей з ПН встановив підвищення продукції МДАс в середньому на 370%, МДАе – на 125%, КГПс та КГПе – на 120% (р < 0,05 – 0,001 у порівнянні з показниками контрольної групи практично здорових дітей). Аналізі аналогічних показників у дорослих пацієнтів продемонстрував зростання спонтанної продукції МДАс в середньому на 220–300 %; дещо менш виразним було утворення МДАе – в середньому на 114-145% у порівнянні з показниками контрольної групи умовно-здорових осіб. Поряд з цим виявлено зростання спонтанної продукції КГП на 150–170%.

Надалі результати дослідження показників ПОЛ/АОЗ були проаналізовані залежно від перебігу ПН (гострий чи хронічний) та встановлено, що для усіх груп пацієнтів характерно підвищення рівня МДА в сироватці крові та еритроцитах у порівнянні з контрольними групами.

Одна з причин підвищення інтенсивності окислативних процесів може бути пов'язана зі станом АОЗ. Так, у групі дорослих пацієнтів з гострим ПН поряд з підвищенням утворення продуктів пероксидації спостерігалось збільшення в сироватці крові концентрацій ЦП та ТР як у порівнянні з показниками контрольної групи (р < 0,001), так і у порівнянні з показниками хворих на хронічний ПН (р < 0,001) (див. табл. 2). У дітей, у разі гострого ПН на відміну від хронічного, спостерігалось підвищення концентрації ЦПс. Таким чином, можна стверджувати, що зміни концентрації ЦПс та ТРс, певною мірою залежали як від перебігу ПН, так і віку пацієнтів.

Показники активності ГР, СПА та концентрації SHe також залежали від перебігу запально-

го процесу в нирках, активність ГП залежала й від віку пацієнтів (див. табл. 2).

Аналізуючи зміни окислатно-антиокислатних показників від віку пацієнтів, встановлено найвищу активність процесів окислатії і найбільш низькі показники АОЄ крові у пацієнтів дитячого віку, що наочно демонструє ІОС (рис 1).

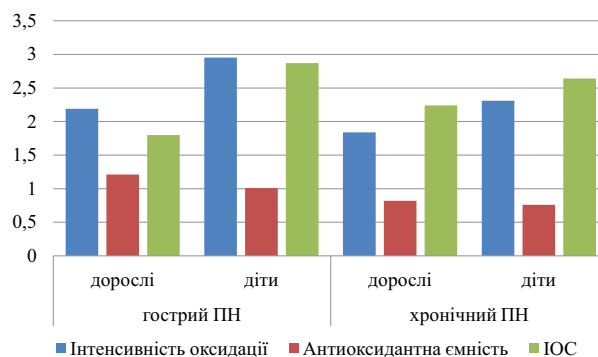


Рис. 1. Відхилення показників окислативного стресу крові від фізіологічної вікової норми (середні величини вікової контрольної групи, що прийняті за 1 ум.од.) з урахуванням перебігу ПН та віку пацієнтів (M ± m).

Обговорення. Вільнорадикальне (перекисне) окислення ліпідів – невід’ємна частина багатьох життєво важливих процесів, таких як постійне оновлення ліпідного складу клітинних мембран, підтримка активності ліпідзалежних рецепторів, синтез попередників простагландинів, окисне фосфорилування у мітохондріях, фагоцитоз та інші [1-3, 11]. За нормального функціонування організму інтенсивність окислативних процесів відносно мала, що зумовлено низьким рівнем утворення продуктів ПОЛ та збалансованою дією системи АОЗ [1, 2]. Ураження нирки відбувається унаслідок декількох причин і, в першу чергу, прямої дії бактерій, гіпоксії та запальної реакції [3, 11].

Результати нашого дослідження демонструють, що найвищі значення спонтанного окислення ліпідів та протеїнів є найбільш характерними саме для гострого ПН, що може бути зумовлено як безпосереднім впливом ендотоксинів патогенів, так і розвитком компенсаторних імунних захисних реакцій, що супроводжуються утворенням АМК [13]. Так, для гострого ПН характерні виражена інтенсивність запальної реакції й переважаючі судинно-ексудативні явища, основними ефекторами котрих вважаються поліморфоядерні лейкоцити [13]. Тоді як у разі хронічного ПН переважають дистрофічні й проліферативні явища, у розвитку яких основна роль належить макрофагам і лімфоцитам [14, 15].

Цікавим виявився факт статистично значущого підвищення ЦП у хворих на гострий ПН та його зниження у разі хронічного перебігу захворювання. Встановлені дані можна пояснити виникненням недостатності ключових ланок АОЗ у зв'язку з довгою тривалістю перебігу ПН чи його рецидивуванням на відміну від гострого процесу.

Відомо, що ЦП та ТР є гострофазними протеїнами й маркерами запалення [16-18], більшість з яких синтезуються макрофагами, гепатоцитами. Крім того, вони здатні діяти як антиоксиданти плазми крові, регулюючи пул Fe^{2+} та блокуючи ланцюгові вільно радикальні реакції [19]. Збільшення концентрації цих протеїнів в плазмі крові свідчить про компенсаторну їх продукцію внаслідок підвищення інтенсивності процесів окиснення, що зумовлена експресією прозапальних цитокінів та реакцією імунної системи на ірадикацію збудників унаслідок порушень розпізнавання антигенів.

Тобто, перебіг ПН – гострий чи хронічний, з одного боку, впливає на особливості реагування О/А системи; з іншого боку, стан системи АОЗ та активація процесів окиснення можуть сприяти хронізації ПН. Все це узгоджується із сучасним уявленням про патогенез ПН [20]. Так, для гострого запального процесу характерна інтенсивність запальної реакції, а основними ефекторами в його патогенезі вважаються поліморфоядерні лейкоцити, тоді як у разі хронічного запального процесу основна роль належить макрофагам і лімфоцитів, які мігрують до тканин у відповідь на дію імунних комплексів та продукують АМК [21]. Разом з активацією лізосомних протеїназ це призводить до локальної продукції АМК, руйнування органел та до пошкодження клітин нирки [5, 22]. Отже, найвища активність процесів ПОЛ та найнижчі показники АОЄ крові характерні для дитячого віку, що сприяє більш інтенсивному розвитку ОС за показниками ІОС.

Висновки.

Таким чином, у дітей та дорослих пацієнтів з пієлонефритом підвищується активність оксидативних процесів в крові за рахунок збільшення концентрації МДА ($p < 0,001$) та КГП ($p < 0,001$), що корелює з недостатнім АОЗ крові, який проявляється зниженням ТРс ($p < 0,001$), активності СПАе ($p < 0,001$), ГПе ($p < 0,001$) та ГРе ($p < 0,001$) залежно від перебігу захворювання та віку пацієнта. Найвища активність процесів оксидативних ліпідів та найнижча АОЄ крові характерні для дитячого віку, що сприяє більш інтенсивному оксидативному стресу.

Література (References):

1. Lushak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact.* 2014. Dec 5;224:164–75. doi: 10.1016/j.cbi.2014.10.016.
2. Sies H Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biol.* 2015. 4: 180–3. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.002.
3. Scholze A, Jankowski J, Pedraza-Chaverri J, Evenepoel P. Oxidative Stress in Chronic Kidney Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2016;2016:8375186. doi:10.1155/2016/8375186.
4. Kolesnyk MO, редактор. *Osnovy nefrolohii: dovidnyk likaria.* Kyiv: Bibliotekaka “Zdorovia Ukrainy”; 2013. 340 s. [In Ukrainian].
5. Del Vecchio L, Canarini M, Cavalli A, Localetti F. Oxidative Stress and Chronic Renal Disease – Clinical Aspects. *System Biology of free Radicals and Antioxidants.* 2014. Editors: Laher, Ismail (Ed.): 2625–2644.
6. Massy ZA, Stenvinkel P, Drueke TB. The role of oxidative stress in chronic kidney disease. *Semin. Dial.* 2009;22(4):405–408.
7. Miyata T, Eckardt K-U, Nangaku M. *Studies of Renal Disorders.* Berlin: Springer-Verlag GmbH; 2011. 830 p. doi: 10.1007/978-1-60761-857-7.
8. Korol LV. Mekhanizmy rozvytku oksydatyvnoho stresu pry zapalnykh protsesakh v nyrkakh ta shliakhy yoho korektsii [dysertatsiia v Interneti]. Kyiv: nats. un-t im. Tarasa Shevchenka; 2017. [tsytovano 2018 Berez 27] [In Ukrainian].
9. Putri AY, Thaha M. Role of oxidative stress on chronic kidney disease progression. *Acta Med Indones.* 2014;46(3):244–252.
10. Heymann F, Trautwein C, Tacke F. Monocytes and macrophages as cellular targets in liver fibrosis. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2009. 8(4):307–318. doi: 10.2174/18715280978935223.

11. Korol LV, Migal LYa, Stepanova NM. Intensity of oxidative stress and activity of angiotensin converting enzyme in blood of patients with uncomplicated pyelonephritis. *Ukr. Biochem. J.* 2017;89(2):99-105. doi: 10.15407/ubj89.02.099.
12. Korol' LV, Mygal' LJ, vynakhidnyky; DU «In-t nefrolohii AMN Ukrainy», patentovlasnyk. Sposib integral'noi' ocinky antyoksydantnoi' jemnosti syrovatky krovi Patent Ukrainy. № 113602. 2017, Ppub. 10.02.2017, Bjul. № 3. [In Ukrainian]
13. Reheda MS, Boichuk TS, Bondarenko YuI, Reheda MM. Zapalennia – typovy patolohichni protses. Vyd.druhe, dop. ta perer. Lviv, 2013. 148 s. [In Ukrainian]
14. Gusev EY, Chereshnev VA, Zhuravleva JA, Solomatina LV, Zubova TE. Progression variants of chronic systemic inflammation. *Medical Immunology (Russia)*. 2009;11(2-3):131-140. [In Russian].
15. Morozova OL, Morozov DA, Zaharova NB. Prichiny i klyuchevyie zvenya patogeneza lokalnogo vospaleniya v mochevyivodyaschih putyah u detey s obstruktivnyimi uropatyiymi. *Pediatrics: zhurnal im. G. N. Speranskogo* [In Russian]. 2014;93(2):117-123
16. Kutsenko LA, Kaydashev IP. Mesto tseruloplazmina sredi belkov ostroy fazyi kak markera sistemnogo vospaleniya. *Laboratornaya diagnostika*. 2011;3(57):59-68. [In Russian].
17. Golenkina EA, Livenskyi AD, Viryasova GM, Romanova YM, Sud'ina GF, Sokolov AV. Ceruloplasmin-derived peptide is the strongest regulator of oxidative stress and leukotriene synthesis in neutrophils. *Biochem Cell Biol.* 2017. 95(3):445-449. <https://doi.org/10.1139/bcb-2016-0180>.
18. Chapman AL, Mocatta TJ, Shiva S, Seidel A, Chen B, Khalilova I, Paumann-Page ME, Jameson GN, Winterbourn CC, Kettle AJ. Ceruloplasmin is an endogenous inhibitor of myeloperoxidase. *J Biol Chem.* 2013. 288(9):6465-77. doi: 10.1074/jbc.M112.418970
19. Sokolov AV, Zakharova ET, Kostevich VA, Samygina VR, Vasilyev VB. Lactoferrin, myeloperoxidase, and ceruloplasmin: complementary gearwheels cranking physiological and pathological processes. *Biomaterials.* 2014;27(5):815-28. doi: 10.1007/s10534-014-9755-2.
20. Pleshkova EM. Oxidative stress and its involvement in the development and course of urinary system diseases in children. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii (Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics)*. 2014;59(5):9-14.
21. Pleshkova EM, Himova YuA. Osobennosti oksidativnogo stressa v aktivnuyu stadiyu ostrogo pielonefrita u detey. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2013;1:36-9.
22. Gurocak S, Ure I, Cumaoglu A, Gonul II, Sen I, Tan O, Aricioglu A, Bozkirli I. Renal tissue damage after experimental pyelonephritis: role of antioxidants and selective cyclooxygenase-2 inhibitors. *Urology.* 2010;76(2):508.e1-5. doi: 10.1016/j.urology.2010.03.040.



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Review Article

I.I. Lapchynska

doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.08

Half a century of IgA nephropathy: achievements, frustrations and challenges

TOV «GlaxoSmithKline Pharmaceuticals Ukraine»

Citation:

Lapchynska I. Half a century of IgA nephropathy: achievements, frustrations and challenges. Ukr J Nephrol Dial. 2018;3(59):50-60. doi: 10.31450/ukrjnd.3(59).2018.08

Abstract. *IgA nephropathy is the most common glomerulonephritis worldwide. This disease has a tremendous economic impact because renal replacement therapy is expensive and hard-to-reach. It also represents a social problem because children and young adults in their second and third decades of life are affected by the IgA nephropathy, and it is the most active period of human life with highest work productivity. Many retrospective studies have shown that 40% of biopsy-proven IgA nephropathy patients develop end-stage kidney disease in 20 years after their biopsy disease.*

The biomarker research in IgA nephropathy has experienced a major splash in recent years with great number of scientific reports. Individual biomarkers often lack sensitivity and specificity with impairment of disease specificity as a consequence. The review describes a novel approach based on a panel of biomarkers for pathogenic process of IgA nephropathy. Integration of genetic, clinical, and bioinformatics data sets could optimize the specific value of each biomarker in a multimarker panel. This is a inspirational and promising approach for precision medicine and personalized therapy in IgA nephropathy.

Half a century into the original description of IgA nephropathy, there is still no specific therapy for this condition. Although the scarcity in treatment advances could be related to the disease's complex pathogenesis. The evolution of different therapeutic approaches is reviewed over time and resulted in the 2012 Kidney Disease: Improving Global Outcomes Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis that presently is being updated, and provide collation of recent data on various forms of immunosuppressive agents. Existing approaches to treatment of IgA nephropathy are described with focus primarily on innovative therapeutic strategies currently being evaluated in IgA nephropathy that were not discussed in the 2012 Kidney Disease Improving Global Outcomes Clinical Practice Guidelines.

Keywords: *IgA nephropathy, biomarkers, immune system, proteinuria, gut, therapeutic approach.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

© Lapchynska I.I., 2018.

Correspondence should be addressed to Inna Lapchynska inna.i.lapchynskaya@gsk.com

Article history:

Received 25 May 2018
Received in revised form
31 May 2018
Accepted 11 June 2018



© Лапчинська І. І., 2018.

УДК 616.61-008.6:616-036.8

І. І. Лапчинська

Півсторіччя ІgА нефропатії: досягнення, розчарування та проблеми

ТОВ "GlaxoSmithKline Pharmaceuticals в Україні"

Резюме. ІgА-нефропатія є найпоширенішим гломерулонефритом у всьому світі. На ІgА-нефропатію в основному страждають діти та молоді люди працездатного віку, що призводить до необхідності високовартісних витрат на лікування нирковою замісною терапією та інвалідизації у молодому віці. Адже ретроспективними дослідженнями продемонстровано, що 40% пацієнтів з морфологічно підтвердженою ІgА-нефропатією досягають термінальної стадії хронічної хвороби нирок через 20 років після біопсії.

Дослідженню біомаркерів ІgА-нефропатії присвячена значна кількість наукових публікацій. Огляд присвячений новим підходам у діагностиці та лікуванні, заснованим на панелі біомаркерів ІgА-нефропатії. Інтеграція генетичних, клінічних та біоінформативних даних може оптимізувати діагностичну цінність кожного біомаркера.

Після першого опису ІgА-нефропатії пройшло півсторіччя, але до цих пір не існує однозначного підходу до лікування. Еволюція різних терапевтичних підходів щодо лікування гломерулонефриту переглядалась з плином часу та підсумована у рекомендаціях *Kidney Disease: Improving Global Outcomes «Clinical Practice Guideline for Glomerulonephritis» (2012)*, які зараз оновлюються. Представлені підходи до лікування ІgА-нефропатії не обговорювались у рекомендаціях 2012 року та описані у фокусі інноваційних терапевтичних стратегій, що потребують подальшої оцінки.

Ключові слова: ІgА нефропатія, біомаркери, імунна система, протеїнурія, кишечник, терапевтичний підхід.

Epidemiology. IgA nephropathy (IgAN) is the most common glomerulonephritis worldwide. This disease has a tremendous economic impact because renal replacement therapy is expensive and hard-to-reach. It also represents a social problem because children and young adults in their second and third decades of life are affected by the IgAN, and it is the most active period of human life with highest work productivity. Many retrospective studies have shown that 40% of biopsy-proven IgAN patients develop end-stage kidney disease (ESKD) in 20 years after their biopsy disease [1]. This is a period of life during which people are very active and have high work productivity [2].

IgA nephropathy (IgAN), or Berger's disease, was described in 1968 [3]. This common kidney disease characterized by persistent microscopic hematuria and/or mild proteinuria and/or recurrent episodes of gross hematuria in concomitance of upper respiratory tract infections. IgAN is diagnosed by the presence of diffuse mesangial IgA deposits, especially the subset of IgA1 in glomeruli.

IgA nephropathy (IgAN), or Berger's disease, is the most common primary glomerular disease worldwide, but varies largely in its geographic distribution. The systematic review of the frequency of IgAN in the five continental areas of the world arose from a need to determine the worldwide burden of this disease, which

remains the most common cause of ESKD among children with permanent urinary abnormalities and young adult patients with biopsy-proven primary glomerular disease [1]. IgAN is more frequent in Asian populations (for example, 45 cases per million population/y in Japan) than in Caucasians (for example, 31 cases per million population/y in France) [4].

These differences are owing to some relevant aspects: (1) systematic mass screening of urine in populations is performed in Asia, but not in Western countries; (2) general practitioners and health care professionals in Western countries underestimate persistent microscopic hematuria and/or mild proteinuria in apparently healthy individuals causing late referral to a nephrologist; and (3) different indications for kidney biopsy in individuals with persistent urinary abnormalities are different in many countries. Frequency of IgAN observed in a nephrology center with a high incidence of kidney biopsies is higher than in a regional renal biopsy registry. If biopsy indications will not be so tight and screening will be used widely, if early therapy will follow it, the global burden of end-stage kidney disease caused by IgAN will be decreased [4].

Pathogenesis. Downstream pathogenetic events leading to tubulointerstitial damage in IgAN are characterized by mesangial-podocytic-tubular cross-talk pathways, in which mesangial deposition of polymeric IgA1 and IgA1-containing immune complexes leads to a podocytopathy that promotes subsequent tubular cell dysfunction to further podocytic injury [5]. Scientific evidence suggest that specific inflammatory pathways play important pathogenetic roles in IgAN, such as complement-mediated and spleen tyrosine kinase-driven intrarenal inflammation.

Inna I. Lapchynska
e-mail: lii66@ukr.net

As soon as hematuria concomitant with pharyngitis is a constant feature in IgAN, participation of the mucosal immune system was considered to be the main pathogenetic factor. Recent observations have confirmed hyper-reactivity of gut-associated lymphoid tissues in IgAN patients [6]. As mentioned below, the emerging concepts on the interaction between the host and the gut microbiota, and a gut-renal connection in IgAN are discussed now [7].

Recently, the Japanese Renal Biopsy Registry reported that among approximately 20,000 native renal biopsies performed in the year 2010, 30% of biopsy specimens were diagnosed with IgAN. Thus, approximately 6,000 incident IgAN patients were diagnosed in the country. Moreover, the investigators reported that 68% of cases had CKD stage 1 or 2 [8].

Data from many countries [2, 4] have shown that these young patients may have three different clinical courses, as follows: (1) short or long remission of the disease (absence of urinary abnormalities) in a low number of individuals (2%-5%); (2) slowly progressive renal deterioration over a 20-year period after the kidney biopsy in a variable percentage of subjects; or (3) rapid deterioration in a few cases (5%-10% of patients). Early biopsy would promote early diagnosis and therapy, which may reduce the progression of renal damage [9].

Some guidelines for healthcare professionals for the diagnostic screening of IgAN: 1) in the presence of asymptomatic urinary signs such as persistent microscopic hematuria and/or mild proteinuria, the general

practitioner should not underestimate the symptoms and must refer the patient to a nephrologist. 2) nephrologists could include the clinical pattern of persistent microscopic hematuria and/or mild proteinuria in the indications for a kidney biopsy 3) children and adolescents should at least be included in these as well as individuals in the military service or employment, even though there are pros and cons to mandatory urinalysis screening.

Dynamic development of histologic classification of IgA nephropathy. Since its description in 1968, a number of histologic descriptions and classification systems have emerged. In 1967, Antoine et al presented immunofluorescence patterns in renal lesions, among which he identified a group of patients with chronic glomerulonephritis or with purpuric lesions whose biopsy specimens showed glomerular deposits of IgA. In 1968, Berger and Hinglais described 25 patients with recurrent hematuria and mesangial IgA deposits that surmounted IgG deposits [3]. The eponym of Berger's disease was introduced in 1973, and by 1975 the defining features of IgA nephropathy were consolidated [9].

In 1997, Haas published a new histologic classification based on his observations of 244 patients with IgAN [10]. The Haas study aimed to establish relevant clinicopathologic correlations and to identify potential histopathologic markers of outcome [10]. The schema recognized FSGS-like lesions as part of the spectrum of IgAN. Five classes were described. A comparison between the Lee and Haas classes is presented in the table 1.

Table 1

Lee [11] and Haas [10] Classification Systems (cited without changes from [12])

Grade	Lee	Haas
I	Mostly normal glomeruli	Minimal histologic lesion
II	<50% of glomeruli with mesangial hypercellularity and sclerosis Rare small crescents	Focal segmental glomerulosclerosis
III	Diffuse mesangial proliferation Occasional adhesions and small crescents	Proliferative glomerulonephritis in ≤50% of glomeruli Crescents might be present
IV	Diffuse marked mesangial proliferation ≤45% of glomeruli with crescents Frequent segmental and global sclerosis	Proliferative glomerulonephritis in >50% of glomeruli Crescents might be present
V	Severe mesangial proliferation >45% of glomeruli with crescents Frequent segmental and global sclerosis	≥40% glomerular sclerosis and/or tubular atrophy

The Oxford Classification of IgAN pioneered the use of an evidence-based approach to histologic classification. Four histologic variables were found to be both reproducible and independently associated with clinical outcome: mesangial hypercellularity (M0, ≤50% glomeruli; M1, >50% of glomeruli showing mesangial hypercellularity); endocapillary hypercellularity (E0, absent; E1, present); segmental glomerulosclerosis (S0, absent; S1, present); and tubular atrophy/interstitial fibrosis (T0, absent or involving ≤25%

of the cortex; T1, 26%-50% of the cortex; T2, >50% of the cortex). M, S, and T scores were found to be independent predictors of either rate of loss of renal function or renal survival in the entire cohort, using a multivariate analysis that included initial eGFR and proteinuria, and follow-up MAP and proteinuria. The E score was considered as independent predictor of outcome in patients who did not receive steroid/immunosuppressive therapy. These scores include the MEST score [13, 14].

The Oxford Classification of IgAN pioneered the use of an evidence-based approach to histologic classification. Four histologic variables were found to be both reproducible and independently associated with clinical outcome: mesangial hypercellularity (M0, $\leq 50\%$ glomeruli; M1, $>50\%$ of glomeruli showing mesangial hypercellularity); endocapillary hypercellularity (E0, absent; E1, present); segmental glomerulosclerosis (S0, absent; S1, present); and tubular atrophy/interstitial fibrosis (T0, absent or involving $\leq 25\%$ of the cortex; T1, 26%-50% of the cortex; T2, $>50\%$ of the cortex). M, S, and T scores were found to be independent predictors of either rate of loss of renal function or renal survival in the entire cohort, using a multivariate analysis that included initial eGFR and proteinuria, and follow-up MAP and proteinuria. The E score was considered as independent predictor of outcome in patients who did not receive steroid/immunosuppressive therapy. These scores include the MEST score [13, 14].

The prognostic value of the MEST criteria has been validated in adults and children by more than 20 studies, including more than 7 000 Asian, European, and North American patients [15]. T score is consistently the strongest predictor of clinical outcome in these validation studies; T1/2 represents advanced chronic damage and late-stage disease at the time of diagnosis and therefore a shorter time to end stage. The Validation of the Oxford Classification of IgA Nephropathy (VALIGA) study was a large validation study that included 1 147 IgAN patients from 13 European countries [15]. Its broad inclusion criteria allowed extrapolation of the Oxford Classification

criteria to patients who were not addressed in the original Oxford Classification study, that is, patients with minimal proteinuria (<0.5 g/d) or decreased renal function at presentation (eGFR < 30 mL/min). Patients with low initial proteinuria showed less frequent MEST lesions, and had 90% 5-year renal survival. In this subgroup, the presence of M1 and/or E1 predicted progression to higher levels of proteinuria (>1 and 2 g/d). Patients with a low eGFR were significantly older, presented with greater initial proteinuria (2.4 g/24 h), showed more frequent M1, S1, and T1-2 lesions, and had an average renal survival of 50% at 5 years [15].

It must be emphasized that, as is the case for most clinicopathologic studies of IgAN, the Oxford Classification study was retrospective and uncontrolled for treatment. The VALIGA study confirmed the prognostic values of mesangial hypercellularity (M1 lesions), including in patients with low initial proteinuria and in pediatric IgAN; among the 174 children included in the VALIGA study cohort, M1 was associated with lower renal survival and increasing proteinuria, and to be the strongest predictor of eGFR slope. Similarly to endocapillary lesions and crescents, the predictive value of mesangial hypercellularity was attenuated by immunosuppression, indicating that M1 lesions are possibly steroid-responsive, especially in children [15].

The Oxford Classification of IgAN now includes 5 variables, Mesangial hypercellularity, Endocapillary hypercellularity, Segmental Sclerosis, Tubular atrophy/interstitial fibrosis, and Crescents (MEST)-C [14] (table 2).

Table 2

2016 Oxford Classification of IgAN [14]

Variable	Definition	Score	
M	Mesangial hypercellularity	M0	Absent to $\leq 50\%$ of glomeruli
		M1	$>50\%$ of glomeruli
E	Endocapillary hypercellularity	E0	Absent
		E1	Present
S	Segmental sclerosis/adhesions/synechiae	S0	Absent
		S1	Present
T	Tubular atrophy and interstitial fibrosis	T0	Absent to $\leq 25\%$ of the cortex
		T1	25%-50% of the cortex
		T2	$>50\%$ of the cortex
C	Crescents	C0	Absent
		C1	1%-24% of the glomeruli
		C2	$\geq 25\%$ of glomeruli

The Prognostic Modeling Working Group's aim is to optimize outcome prediction for individual patients by developing a risk prediction model that incorporates histologic, clinical, and other data. An initial study [12, 15] including more than 900 patients from three different cohorts (Oxford Classification, North American, and VALIGA), showed that a model based on a combination of MEST criteria and initial clinical data performed as well as 2-year clinical data in predicting

the risk of reaching a combined end point of ESRD or 50% loss of eGFR. This earlier risk prediction was independent of treatment with renin-angiotensin system blockade or immunosuppression. This was a large and detailed IgAN data set and will enable risk stratification according to ethnicity in both adults and children. The ultimate goal is to develop web-based and mobile application calculators that may be used in the management of individual.

One of the central aims of the Oxford Classification study and the IgANN/RPS working groups is to identify histologic lesions that are responsive to immunosuppression and thus use the biopsy in guiding therapeutic decisions. There is evidence from several of the large retrospective studies described earlier that endocapillary hypercellularity and crescents (E1 and C1/2) are associated with more rapid loss of renal function in the absence of immunosuppression, and patients with these lesions have a better outcome if treated with steroids. The confirmatory evidence from prospective randomized clinical trials (RCTs) is needed for clarification of the role of histology in guiding therapy.

The scoring of histologic lesions that comprise the MEST-C criteria were found to be highly reproducible in the original Oxford Classification study which aim was to resolve differences in the evaluation of challenging lesions [14]. Interobserver variation in the interpretation of glomerular and other lesions in the renal biopsy specimen may be improved by providing clear lesion definitions and illustrated guidance. An RPS Working Group currently is developing consensus definitions that can be applied to any glomerular disease, not just IgAN.

Studies over the past decade have identified those histologic lesions that are associated with progressive IgAN in the absence of immunosuppression, and shown which lesions are treatment-responsive. In the near future, methods for assessing renal biopsy specimens will be refined, accurate prediction models that incorporate clinical and histologic data will be developed, and the role of the renal biopsy in guiding standard therapy and the use of new therapeutic agents will be determined [16].

Mesangial-podocytic-tubular cross-talk and its leading role in IgAN.

A subgroup of IgAN with proximal tubular epithelial cells (PTECs) and tubulointerstitial damage often is associated with rapid progression to end-stage renal failure. Human mesangial cell-derived mediators lead to podocyte and tubulointerstitial injury via mesangial-podocytic-tubular cross-talk. Podocytes are the final gatekeeper of the glomerular filtration barrier. This barrier has three major components: the fenestrated endothelial cell, the glomerular basement membrane (GBM), and the podocyte with their slit diaphragms. Foot processes (FPs) of podocytes contain an actin-based cytoskeleton that is linked to the GBM. FPs of podocyte form a highly branched interdigitating network with the FPs of neighboring podocytes. Slit diaphragm bridges the filtration slits between opposing podocyte FPs, forming the final barrier to urinary protein loss [5].

The most distinctive structural change in injured podocytes is cell hypertrophy or sclerosis. Podocyte hypertrophy or sclerosis at the tubular pole (tip lesion) is associated with heavy proteinuria at presentation of IgAN and a more rapid decrease in renal function. Segmental sclerotic lesions commonly are seen in glomer-

uli in IgAN. In the Oxford Classification, the presence of segmental sclerosis was found to predict an adverse outcome. It was suggested that the sclerotic lesions seen in IgAN form mainly as a consequence of healing of previous inflammatory lesions [5].

Deposition of IgA-IC to human mesangial cells (HMCs) triggers the production of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and TGF- β , and down-regulates the expression of nephrin, ezrin and other proteins of the slit diaphragm by podocytes. Mesangial-derived TNF- α up-regulates the TNF- α receptor-1 (TNFR1) expression by podocytes and increases the podocytic TNF- α synthesis. Up-regulated TNF- α acts on the TNFR1 and increases podocytic interleukin (IL)-6 release. Furthermore, TNF- α up-regulates the expression of podocytic TNF- α receptor and angiotensin II receptor 1 (AT1R) through a nuclear factor κ light-chain enhancer of activated B cells (NF- κ B)-dependent mechanism. This TNF- α /TNFR1/AT1R axis modulates further nephrin reduction and apoptosis in podocytes [17].

Podocytopathy in IgAN may be accompanied by tubulointerstitial changes including tubular atrophy, interstitial infiltrates, inflammation, and fibrosis. Proteinuria is a surrogate marker of tubulointerstitial injury [5, 17].

The mechanism for the formation of IgA-IC is highly variable in different patient groups as a result of the following: (1) marked differences in the extent of serum IgA1 O-glycosylation and the hinge-region-specific autoantibodies (2) the presence or absence of additional components in the process of immune complex formation (usually these components include soluble CD89 of different molecular weight, complements, and antigliadin antibodies); (3) the variation in the size of IgA-IC and light chain composition of the IgA1. It is likely that both genetic and environmental factors play contributory roles in the process of IgA-IC formation. IgA-IC binds to mesangial cells but not podocytes or tubular epithelial cells. Mesangial deposition of IgA-IC leads to the activation of HMCs, leading to mesangial cell proliferation, matrix expansion, and the release of proinflammatory and profibrotic mediators. Mesangial deposition of IgA immune complexes induced glomerulopodocytic cross-talk through the release of TNF- α , TGF- β , complement components, and other bioactive factors [5].

Gut-associated immune system and IgAN. The relationship between IgA nephropathy (IgAN) and the mucosal immune system has been considered since the identification of this renal entity by [3] 50 years ago. IgA, which is predominant in the mesangial deposits of IgAN, is produced mostly by the mucosal-associated lymphoid tissue (MALT) and is the most represented immunoglobulin in mucosae [18]. The clinical hallmark of IgAN is the manifestation of gross hematuria, often coincident with an upper respiratory-tract infection, hence most of the interest has been focused on the oropharyngeal and tonsillar-associated lymphoid tissue

in the past, however, some associations between IgAN and intestinal disorders were reported decades ago [19]. In some patients the mucosal infection triggering hematuria involves the intestine, with acute diarrhea, or in patients with Crohn's disease it involves the ileocecal region. Patients with celiac disease and inflammatory bowel diseases have an increased frequency of IgAN, indicating a connection stronger than sheer chance [20]. Recent data have suggested investigators reconsider old theories of a role of dysregulated GALT in which the genetic conditioning, the gut dysbiosis, and the reaction to diet components may play a combined role in the development and progression of IgAN. This hypothesis led to a search for innovative treatment approaches to IgAN focused on corticosteroids specifically targeting GALT in the Peyer's patches and possible dietary components and intestinal microbiota modulations [8].

Gluten-free diet for two periods of 1 and 6 months was associated with a significant reduction in IgA-IC, followed by a rebound after intervals of 1 and 3 months of a gluten-containing diet. These fluctuations of IgA-IC were not observed during diets avoiding other alimentary components, such as meat or eggs. After 6 months on a gluten-free diet, all patients had normal IgA-IC levels. Gluten-free diet may have interrupted the self-maintaining circle of gluten-dependent abnormal intestinal permeability [18].

Patients with IgAN, either children or adults, have increased intestinal permeability, tested by the ⁵¹Cr-EDTA method often found to be associated with an increased level of IgA directed against alimentary antigens, suggesting exposure to immunogenic alimentary antigens and breakdown of oral tolerance [18]. Several studies have focused on investigated signs of intestinal mucosal inflammation, particularly on features typical of celiac disease in patients with IgAN. In patients with IgAN, duodenal inflammation of varying degrees has been detected, with a high presence of small-bowel T cells and increased expression of HLA-DR and GroEL stress protein and mucosal cyclooxygenase [21].

The involvement of GALT in IgAN suggests the possible benefits of drugs targeted to the mucosal B lymphocytes in Peyer's patches, which are supposed to be primed to produce Gd-IgA1, the initial step in the pathogenesis of IgAN. Decreased production of Gd-IgA1 would reduce the consequent autoantibody formation, and macromolecular IgA1 circulation and renal deposition. To this aim, a new formulation of the glucocorticosteroid budesonide was designed with a targeted-release formulation to release the active drug in the distal ileum, where Peyer's patches mostly are represented. Results from a phase 2b trial indicated that targeted-release formulation budesonide has the potential to become the first IgAN-specific treatment targeting intestinal mucosal immunity upstream of disease manifestation [21].

There are several old and new data indicating a role for gut-renal connection in IgAN, based on genetic, microbial, and dietary factors, which interact in induc-

ing functional modifications of the intestinal mucosal immune system, favoring the development of IgAN. This pathogenetic mechanism opens an interesting new perspective in developing and testing new approaches on a large number of patients based on the use of drugs targeting GALT as well as a gluten-free diet and microbiota manipulations [18, 21].

Biomarkers and Precision Medicine in IgA Nephropathy. In 2011 the hypothesis appeared that the pathogenesis of IgAN was based on four hits. These hits are as follows: 1) the occurrence of an abnormal IgA1 glycosylation process leading to galactose-deficient IgA1 (Gd-IgA1); 2) the formation of antiglycan antibodies against Gd-IgA1; 3) the formation of nephrogenic circulating immune complexes; and, 4) the deposition of these complexes in the mesangium of glomeruli leading to renal injury with variable clinical expressions (macrohematuria, microscopic hematuria, acute renal failure, and chronic renal damage). This four-hit hypothesis is supported by high levels of aberrant glycosylated IgA1 and circulating immune complexes in the blood of patients with IgAN, and by the in vitro proliferation of human mesangial cells and the secretion of extracellular matrix proteins in the presence of immune complexes of IgAN patients [22].

High serum levels of Gd-IgA1 may be considered a diagnostic biomarker of the disease, and their persistence is predictive of renal function decline. Therefore, this biomarker also may be prognostic, but its validation in large multiracial cohorts of IgAN patients with long-term follow-up evaluation is necessary [22].

Recent systematic review [22] analyzed 22 eligible studies that evaluated the serum levels of Gd-IgA1 in IgAN patients, individuals with other glomerulonephritis, and controls. The meta-analysis provided evidence that adults and children with IgAN had high serum levels of Gd-IgA1, thus showing that this biomarker may be considered a useful indicator for the diagnosis of IgAN. However, in the present meta-analysis no significant correlation with the severity of the disease was found. Therefore, the investigators concluded that this biomarker may be specific for the suspected diagnosis of IgAN in individuals with permanent urinary abnormalities who refuse renal biopsy, mainly in family members of IgAN patients. However, it cannot be considered a sensitive biomarker for evaluating disease severity.

Circulating let-7b and miR-148b may be considered a reliable and noninvasive clinical biomarker to predict the probability of having IgAN. The use of this combined biomarker may be considered as a first approach for the diagnosis of IgAN in family members of IgAN patients who have permanent urinary abnormalities, such as microscopic hematuria and/or mild proteinuria and who are in apparently good health, or individuals with an overt clinical picture of suspected IgAN who refuse renal biopsy [22].

The presence of an increased fraction of Gd-IgA1 in the blood of IgAN patients stimulates the immune

system to produce IgG and IgA antibodies because the truncated IgA1 hinge region is recognized as nonself. Therefore, the measurement of circulating IgA1-IgG or IgA1-IgA immune complexes in the blood may be considered another diagnostic parameter for monitoring the clinical course of the disease [2].

The IgA receptor family is composed of six receptors, but myeloid IgA fragment crystallizable alpha receptor or CD89 specifically binds IgA and might contribute to the formation of serum polymeric IgA. Soluble CD89 (sCD89) receptors are present in the blood and sCD89-IgA complexes have been measured in IgAN patients. Stable high levels of circulating sCD89-IgA immune complexes have been detected in IgAN patients without disease progression, whereas low levels were found in patients with severe renal damage. The investigators speculated that sCD89-IgA immune complexes are more suitable to precipitate at the renal level and, consequently, are less represented in the peripheral blood, that's why this biomarker may be taken into consideration for disease progression.

Podocyte depletion, which causes glomerular sclerosis and the persistent loss of podocytes in urine, is a proved marker of disease progression [2].

The classic process for the development of a diagnostic biomarker is based on three steps: discovery, validation, and confirmation. A biomarker should be independent of the disease outcome. In this case, the logistic regression analysis (univariate and multivariate) should show that the biomarker does not diminish in value in the presence of clinical factors. Thus, this approach determines the influence of other variables (demographic and clinical parameters) that reduce the biomarker's performance as a predictor of a disease [2].

However, the validation and confirmation of results in other cohorts of IgAN patients are few. Recently, clinical bioinformatics has been proposed to optimize the development of disease-specific biomarkers because it integrates clinical and laboratory findings, omics data, and bioinformatics [2]. The simultaneous evaluation of clinical and basic research data could optimize the specific value of biomarkers. A biomarker may be prognostic because it predicts the clinical outcome in the absence of therapy (natural story of the disease) or in the presence of a standardized therapy. On the other hand, a biomarker may be predictive when it is able to predict the benefit or lack of benefit in the presence of an established therapy.

The process for translating the biomarker from research to clinical practice is based on six steps: (1) research plan; (2) management of data; (3) engagement, education, and collaboration of patients including diverse populations; (4) innovation by designing a clinical trial; (5) evidence generated by the clinical study; and (6) translation in clinical practice [23]. Conventional medical practice is based on the standard of care obtained through the averaging of responses across large clinical trials. Precision medicine, which takes into account omics data, lifestyle, and environmental factors,

is a new model tailoring medical treatment to the individual characteristics of each patient. Precision medicine can use big data, thus improving prevention, diagnosis, and therapy [23].

The first step of precision medicine in nephrology has been the genome-wide association studies that have compared gene mutations present in a large cohort of IgAN patients with numerous healthy controls. Another approach for precision medicine in IgAN is the molecular phenotyping of kidney biopsy specimens used for disease diagnosis [2].

Renal biopsy still remains the gold standard for clinical diagnosis in IgAN, but histopathology can demonstrate different biomarkers involved into pathogenesis of IgA nephropathy. The development of biomarkers will introduce molecular stratification of renal lesions and address precision medicine. Moreover, the systems pharmacology applied to the renal signatures may provide additional information on the use of old and new drug molecules that have as their target the discovered biomarker(s) [2, 23].

Therapy – adopted and novel approach. Although IgAN was described 50 years ago this year, in 2018 there is no approved drug treatment for this disease. In 2016 the Kidney Health Initiative established a workgroup focused on Identifying Surrogate End Points for Clinical Trials in IgA Nephropathy. This workgroup is expected to publish a guideline on drug development in IgAN in 2018 that will recommend clinical trial end points that should be incorporated in all future IgAN clinical trials, making it more feasible for companies to invest in the research necessary to improve treatments for patients with IgAN [24].

Patients with minor urine abnormalities and normal blood pressure and glomerular filtration rate usually require only periodic monitoring. For other patients with proteinuria, a commonly adopted nonspecific approach is blockade of the renin-angiotensin system. Evidence accumulated from 56 studies among 2 838 participants showed that only antihypertensive drugs (mostly angiotensin-converting enzyme inhibitor (ACEI) or angiotensin-receptor blocker (ARB)) provided useful intervention, mainly by reducing proteinuria. In a meta-analysis of 585 patients from 11 randomized clinical trials (RCTs) significant renoprotection and reduction of proteinuria were achieved with an ACEI or ARB versus control [24].

Effectiveness of fish oil as a monotherapy is not proved. A European trial of 30 patients suggested that a RAS blocker combined with polyunsaturated fatty acids reduced proteinuria more than a RAS blocker alone [24].

A meta-analysis of seven nonrandomized studies (mostly from Japan) comprising 858 patients demonstrated that tonsillectomy combined with either standard or pulse corticosteroid treatment, but not tonsillectomy or corticosteroid treatment alone, resulted in higher remission rates with a favorable long-term outcome. Meta-analysis of 14 studies (also mostly from Ja-

pan) found positive effects of tonsillectomy plus pulse or conventional steroids. Outside of Japan, the benefits of tonsillectomy have not been documented [8, 25].

The KDIGO guidelines suggest that patients with persistent proteinuria greater than 1 g/d, despite 3 to 6 months of optimized supportive care (including ACEIs or ARBs and blood pressure control), and a GFR greater than 50 mL/min/1.73 m², receive a 6-month course of corticosteroid therapy [26].

Barratt et al. (2018) suggest not treating with corticosteroids combined with cyclophosphamide or azathioprine in IgAN patients (unless there is crescentic IgAN with rapidly deteriorating kidney function) and not to use mycophenolate mofetil (MMF) in IgAN [24].

KDIGO recommended that an RCT comparing MMF and corticosteroids versus corticosteroids alone in patients receiving optimal antihypertensive and anti-proteinuric therapy should be performed, as well as an RCT to investigate the different efficacy of MMF in Asians versus Caucasians, including evaluation of drug and metabolite levels [26, 27].

In multicenter, open-label, randomized, controlled STOP-IgAN trial, immunosuppressive therapy added to comprehensive supportive therapy was compared with comprehensive supportive therapy alone. It was shown that the increase in full clinical remissions was driven exclusively by the glucocorticoid monotherapy arm, which produced a transient reduction in proteinuria in patients with relatively well-preserved GFR. The number of adverse events and GFR dynamics were more common in both immunosuppression arms when compared with supportive care [28].

The TESTING study was a multicenter, double-blind, randomized, clinical trial designed to evaluate the efficacy and safety of corticosteroids in patients with IgAN and proteinuria greater than 1 g/d and eGFR of 20 to 120 mL/min after at least 3 months of blood pressure control with RAS blockade. Patients were randomized 1:1 to oral methylprednisolone (0.6–0.8 mg/kg/d; maximum, 48 mg/d; n=136) or matching placebo (n=126) for 2 months, with subsequent weaning over 4 to 6 months. The primary renal outcome had occurred in 8 participants in the methylprednisolone group versus 20 in the placebo group, consistent with a potential renal benefit of oral methylprednisolone use in IgAN, although definitive conclusions could not be made because of early termination of the trial [13].

Both studies showed a reduction in proteinuria with corticosteroids, albeit a transient reduction in STOP-IgAN, however, renoprotection was seen only in the TESTING study, albeit on an interim analysis with a shorter follow-up period than was available in STOP-IgAN. There were limitations to both studies, principal among these were that neither study used renal biopsy features when determining patient eligibility and the follow-up time for both studies was relatively short for a disease that typically is slowly progressive. Differences in the proportion of patients with scarring lesions (Ox-

ford S and T) versus proliferative lesions (Oxford M, E, and C) between the two studies and between the treatment arms within each study conceivably could have altered the response to immunosuppressant therapy, as shown in a recent clinical trial of MMF and prednisolone incorporating repeat renal biopsies. This is particularly important because proliferative lesions are seen more frequently in renal biopsy series from Asia than in series from Europe, and TESTING participants were almost exclusively Chinese whereas STOP-IgAN recruits were white Europeans. Until that time, corticosteroids should be used on an individualized basis, not dictated purely by eGFR and UPCR values, with involvement of the patient in the decision after an open discussion covering both the potential benefits and definite risks of taking corticosteroids for IgAN. [7, 13, 17, 29].

Two new RCTs of MMF in IgAN have been published since the 2012 KDIGO guidelines. The first of these was a US-based, double-blind, placebo-controlled RCT evaluating the efficacy of MMF in children, adolescents, and adults who had a UPCR of 0.6 g/g or greater (in males) and 0.8 g/g or greater (in females) after optimization on lisinopril (or losartan) plus a highly purified omega-3 fatty acid. The trial was terminated early at the recommendation of the Data Monitoring Committee because of the lack of benefit [27].

The second prospective, multicenter, randomized, controlled, open-label, 12-month study comparing MMF with prednisolone against prednisolone alone for the treatment of incident (biopsy within 1 month of enrollment) IgAN with active proliferative lesions (cellular and fibrocellular crescents, endocapillary hypercellularity, or necrosis), proteinuria of 1.0 g/24 h or greater, and eGFR greater than 30 mL/min [27]. Eligible patients received either MMF 1.5 g/d for 6 months, and prednisone 0.4 to 0.6 mg/kg/d for 2 months, and then tapered by 20% per month for the next 4 months, or prednisone 0.8 to 1.0 mg/kg/d for 2 months, and then tapered by 20% per month for the next 4 months. There was no significant difference in CR rates at 6 and 12 months, however, steroid-related adverse events were lower in the MMF group than in the prednisone group, and there was no difference in the total adverse event rates between the MMF and prednisone groups at 12 months. Endocapillary hypercellularity, crescents, and necrosis lesions in glomeruli had improved or disappeared after immunosuppressive therapy, however, in the MMF group there was a significant increase in global glomerular sclerosis that was not seen in the prednisolone group [27].

The US study of MMF monotherapy was consistent with other studies of MMF in predominantly Caucasian populations and supports the 2012 KDIGO advice not to use MMF in IgAN. Most of the supportive evidence for efficacy of MMF in IgAN has in fact come from Asia. This study from China should be commended for basing inclusion on renal biopsy features and per-

forming repeat renal biopsies, one of the few studies to do this in IgAN. Until the results of the TESTING Low Dose Study are available it would not be unreasonable to suggest that in Chinese patients being considered for corticosteroid therapy physicians should consider a steroid-sparing regimen including MMF (at the dose used in this study) as an alternative to reduce the risk of adverse events [17, 27, 29].

There is increasing evidence supporting a pivotal role of the mucosal immune system in the pathogenesis of IgAN. IgA nephropathy has been associated with diseases in which mucosal immune responses are abnormal, such as celiac disease and inflammatory bowel disease. Many of the features of mesangial IgA are those typically associated with IgA produced in the mucosal-associated lymphoid tissue (MALT). Two events thought to be critical are antigen-driven activation of the innate immune response, in particular through ligation of Toll-like receptors (TLRs), and B-cell activating factor (BAFF) and a proliferation inducing ligand (APRIL) signaling, pathways that now both are amenable to therapeutic manipulation [24]. Recent genome-wide association studies in IgAN that have identified susceptibility loci in genes that are associated directly with intestinal mucosal immunity [24]. Tonsillectomy removes a portion of mucosal tissue enriched with immunocompetent lymphoid cells, which are a significant source of secretory IgA. Although the long-term clinical benefit of tonsillectomy is controversial [24].

Hydroxychloroquine, a drug commonly used in systemic lupus erythematosus, is a potent inhibitor of TLR-9 and, to a lesser extent, TLR-7 and TLR-8, and inhibits antigen processing and presentation via alkalization of proteasomes [24]. A recently published case-control study from China reported a significant reduction in proteinuria in patients treated for 24 weeks with 200 mg twice daily of hydroxychloroquine compared with those who received RAS blockade alone. In an open-label, uncontrolled, proof-of-concept, pilot study, the potential treatment effects and safety profile of Nefecon, a modified release formulation of budesonide specifically designed to deliver budesonide to the ileocecal Peyer's patches with minimal systemic exposure and side effects, were examined. Treatment with Nefecon 8 mg/d for 6 months resulted in a 23% reduction in urinary albumin excretion and a minor reduction in serum creatinine level and a modest increase of the GFR. No major corticosteroid-related side effects were reported [30].

The Effect of Nefecon in Patients With Primary IgA Nephropathy at Risk of Developing End-stage Renal Disease trial, a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 2b trial of Nefecon in IgAN that was reported in 2017 [30]. In this study 150 patients with persistent proteinuria greater than 0,75 g/d despite optimized RAS blockade were randomized 1:1:1 to receive 16 mg/d Nefecon, 8 mg/d Nefecon, or placebo, stratified by baseline UPCR. At 9 months, the mean UPCR had decreased by 27,3% in 48 patients who received 16 mg/d and by 21,5% in the 51 patients who received

8 mg/d; 50 patients who received placebo had an increase in mean UPCR of 2.7% [30]. The effect was sustained throughout the follow-up evaluation and the incidence of adverse events was similar in all groups, although 25 of 99 (25%) patients in the Nefecon groups discontinued treatment or follow-up evaluation, 16 because of adverse events. Systemic corticosteroid-related effects were among the most common adverse events, suggesting in the minds of some investigators that some of the administered budesonide (or one of its metabolites) may have acted systemically, rather than locally, to decrease proteinuria.

Clinical trials with blisibimod, atacicept, bortezomib and fostamatinib (a selective oral Syk inhibitor) are ongoing [24, 31], Rituximab showed no effectiveness in IgA nephropathy [32].

Recent genome-wide association studies have provided additional evidence to support a role for complement activation in IgAN. Given the evidence for complement activation in IgAN and the emerging availability of agents that selectively block complement activation, investigators are beginning to explore the utility of complement inhibition in IgAN [24].

Eculizumab, a recombinant, fully humanized, monoclonal antibody against complement C5, prevents cleavage of C5 and formation of both the membrane attack complex and the anaphylatoxin C5a. and is currently is approved for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and atypical hemolytic uremic syndrome [31]. There have been two case reports of eculizumab use in rapidly progressive IgAN. In both cases, eculizumab was associated with temporary benefit in stabilizing renal function or proteinuria, but in both cases, there was significant disease progression once eculizumab was discontinued. These case reports raised the possibility of complement inhibition as a treatment strategy in IgAN [31].

Avacopan, also known as CCX168, is an orally active, selective, and potent C5aR inhibitor that has been proven to inhibit C5a-mediated migration in in vitro and ex vivo chemotaxis assays. The clinical effectiveness of avacopan was shown in a phase II clinical trial in anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated renal vasculitis, administration of avacopan (+cyclophosphamide) was as efficacious as or more efficacious than the standard treatment (high-dose prednisolone + cyclophosphamide) [24]. A small proof-of-concept study also was performed in IgAN. After an 8-week run-in period on a maximum tolerated dose of a renin-angiotensin-aldosterone system inhibitor, patients started avacopan dosing, 30 mg twice daily for 12 weeks, with a 12-week follow-up period. Seven patients received avacopan treatment, and all 7 patients completed the study. At the end of 12 weeks, proteinuria was reduced in 6 of 7 patients, with 3 of the 7 patients showing significant improvement to a UPCR less than 1 g/g. At the end of the 12-week period after treatment, the UPCR in 2 of these 3 patients returned to baseline levels, while the improvement was maintained in the third patient. Avacopan appeared to be safe and well tolerated [24].

OMS721 is a fully human monoclonal antibody targeting MASP-2 that currently is being evaluated for the treatment of thrombotic microangiopathies and complement-associated renal diseases, including IgAN. Initial results from a phase IIa study (Safety Study of IgAN, lupus nephritis, membranous nephropathy, and C3 Glomerulopathy Including Dense Deposit Disease Treated With OMS721) have been presented at both the European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association Congress and American Society of Nephrology meeting in 2017, and suggest that OMS721, and inhibition of the lectin pathway, significantly reduces proteinuria in IgAN [24, 33]. Further data are awaited.

With an improved understanding of the genetic and immunologic basis for IgAN, alongside a changing regulatory environment, we are now observing an increasing number of exploratory studies of novel therapies in IgAN. It is hoped that over the next decade some of these new therapies will evolve into approved treatments for IgAN, and lead to the clearer understanding of the role of established immunosuppressants such as corticosteroids and MMF and ultimately nephrologists will be able to offer a rational approach to the treatment of this common glomerulonephritis.

Disclosure Statement. No conflicts of interests declared.

References:

1. Soares MFS, Roberts ISD. Histologic Classification of IgA Nephropathy: Past, Present, and Future. *Semin Nephrol.* 2018; 38(5):477-84. doi: 10.1016/j.semnephrol.2018.05.017
2. Schena FP, Cox SN. Biomarkers and Precision Medicine in IgA Nephropathy. *Semin Nephrol.* 2018;38(5):521-30. doi:10.1016/j.semnephrol.2018.05.022.
3. Berger J, Hinglais N. Intercapillary deposits of IgA-IgG. *J Urol Nephrol (Paris).* 1968;74:69-95 [in French].
4. Schena FP, Nistor I. Epidemiology of IgA Nephropathy: A Global Perspective. *Semin Nephrol.* 2018; 38(5):435-42. doi:10.1016/j.semnephrol.2018.05.013
5. Leung JC, Chan LY, Saleem MA, Mathieson PW, Tang SC, and Lai KN. Combined blockade of angiotensin II and prorenin receptors ameliorates podocytic apoptosis induced by IgA-activated mesangial cells. *Apoptosis.* 2015;20:907-20. doi: 10.1007/s10495-015-1117-1
6. Tang SCW. An Overview of IgA Nephropathy: 50 Years On. *Seminars in nephrology.* 2018;38(5):433-34. doi: 10.1016/j.semnephrol.2018.05.024
7. Coppo R, Troyanov S, Bellur S et al. Validation of the Oxford classification of IgA nephropathy in cohorts with different presentations and treatments. *Kidney Int.* 2014; 86: 828-36. doi: [10.1038/ki.2014.63]
8. Kawamura T, Yoshimura M, Miyazaki Y et al. A multicenter randomized controlled trial of tonsillectomy combined with steroid pulse therapy in patients with immunoglobulin A nephropathy. *Nephrol Dial Transplant.* 2014; 29:1546-53. doi: 10.1093/ndt/gfu020
9. Hoshimo Y, Kaga T, Abe Y, Endo M, Wakai S, Tsuchiya K et al. Renal biopsy findings and clinical indicators of patients with hematuria without overt proteinuria. *Clin Exp Nephrol.* 2015;19:918-24. doi: [10.1007/s10157-015-1090-6]
10. Haas M. Histologic subclassification of IgA nephropathy: a clinicopathologic study of 244 cases. *Am J Kidney Dis.* 1997;29:829-42.
11. Lee SMK. Prognostic indicators of progressive renal disease in IgA nephropathy: emergence of a new histologic grading system. *Am J Kidney Dis.* 1997; 29: 953-58
12. Barbour SJ, Espino-Hernandez G, Reich H et al. Oxford derivation, North-American validation and VALIGA consortia. The MEST score provides earlier risk prediction in IgA nephropathy. *Kidney Int.* 2016;89:167-175. doi: 10.1038/ki.2015.322
13. Lv J, Zhang H, Wong MG, et al. Effect of Oral Methylprednisolone on Clinical Outcomes in Patients With IgA Nephropathy: The TESTING Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2017;318(5):432-42. doi: [10.1001/jama.2017.9362]
14. Trimarchi H, Barratt J, Cattran DC et al. Oxford Classification of IgA nephropathy 2016: an update from the IgA Nephropathy Classification Working Group. *Kidney Int.* 2017; 91: 1014-21. doi: 10.1016/j.kint.2017.02.003.
15. Alamartine E, Sauron C, Laurent B, et al. The use of Oxford classification of IgA nephropathy to predict renal survival. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:2384-88. doi: [10.2215/CJN.01170211]
16. Cook T, Roberts IS, Feehally J, Barratt J. Evidence-based classification of glomerular pathology. *Kidney Int.* 2014;86:1059. doi: 10.1038/ki.2014.248
17. Glasscock RJ. Glomerular disease: targeted steroid therapy for IgA nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13:390-92. doi: 10.1038/nrneph.2017.65
18. Shreiner AB, Kao JY, Young VB. The gut microbiome in health and in disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2015;3:69-75. doi: [10.1097/MOG.000000000000139]
19. Evenepoel P, Poesen R, and Meijers B. The gut-kidney axis. *Pediatr Nephrol.* 2017; 32: 2005-14. doi: 10.1007/s00467-016-3527-x
20. Forbes JD, Van Domselaar G, Bernstein CN. The gut microbiota in immune-mediated inflammatory diseases. *Front Microbiol.* 2016;7:1081. doi: [10.3389/fmicb.2016.01081]

21. *Fellström BC, Barratt J, Cook H, Coppo R, Feehally J, de Fijter JW et al.* Targeted-release budesonide versus placebo in patients with IgA nephropathy (NEFIGAN): a double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet.* 2017;389:2117-27. doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30550-0
22. *Yanagawa H, Suzuki H, Suzuki Y, Kiryluk K, Gharavi AG, Matsuoka K et al.* A panel of serum biomarkers differentiates IgA nephropathy from other renal diseases. *PLoS One.* 2014; 9: e98081. doi.org/10.1371/journal.pone.0098081 Available from <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0098081>
23. *Berthoux F, Suzuki H, Mohey H, Maillard N, Mariat C, Novak J et al.* Prognostic value of serum biomarkers of autoimmunity for recurrence of IgA nephropathy after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2017; 28: 1943-50. doi: [10.1681/ASN.2016060670]
24. *Barratt J, Tang SCW.* Treatment of IgA Nephropathy: Evolution Over Half a Century. *Semin in Nephrol.* 2018 September; 38(5):531-40. doi: 10.1016/j.semnephrol.2018.05.023.
25. *Liu LL, Wang LN, Jiang Y et al.* Tonsillectomy for IgA nephropathy: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* 2015;65:80-7. doi: 10.1053/j.ajkd.2014.06.036
26. *Radhakrishnan J, Cattran DC.* The KDIGO practice guideline on glomerulonephritis: reading between the (guide)lines—application to the individual patient. *Kidney Int.* 2012;82:840-56. doi: 10.1038/ki.2012.280
27. *Hou JH, Le WB, Chen N et al.* Mycophenolate mofetil combined with prednisone versus full-dose prednisone in IgA nephropathy with active proliferative lesions: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis.* 2017;69:788-95. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.11.027
28. *Rauen T, Fitzner C, Eitner F et al.* Effects of two immunosuppressive treatment protocols for IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29:317-25. doi: 10.1681/ASN.2017060713
29. *Glasscock RJ.* Moderator's view: treatment of IgA nephropathy-getting comfortable with uncertainty. *Nephrol Dial Transplant.* 2016;31:1776-80. doi: 10.1093/ndt/gfw284
30. *Sherlock ME, MacDonald JK, Griffiths AM, Steinhart AH, Seow CH.* Oral budesonide for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;10:CD007698 doi: 10.1002/14651858.CD007698.pub3 Available from <https://www.cochranelibrary.com/cdsr/doi/10.1002/14651858.CD007698.pub3/full>
31. *Ring T, Pedersen BB, Salkus G, Goodship, TH.* Use of eculizumab in crescentic IgA nephropathy: proof of principle and conundrum? *Clin Kidney J.* 2015; 8: 489-91. doi: [10.1093/ckj/sfv076]
32. *Lafayette RA, Canetta PA, Rovin BH et al.* A randomized, controlled trial of rituximab in IgA nephropathy with proteinuria and renal dysfunction. *J Am Soc Nephrol.* 2017;28:1306-13. doi: 10.1681/ASN.2016060640
33. *Gao R, Wu W, Wen Y, Li X.* Hydroxychloroquine alleviates persistent proteinuria in IgA nephropathy. *Int Urol Nephrol.* 2017;49:1233-41. doi: 10.1007/s11255-017-1574-2

ВИМОГИ ДО РОБІТ, ЩО ПОДАЮТЬСЯ ДО ПУБЛІКАЦІЇ В “УКРАЇНСЬКИЙ ЖУРНАЛ НЕФРОЛОГІЇ ТА ДІАЛІЗУ”

У зв'язку з індексуванням журналу міжнародними пошуковими системами та підвищенням вимог до оформлення наукового матеріалу, редколегія формалізує вимоги до видання для ефективного розповсюдження матеріалів у світовій мережі Інтернет та приєднання до міжнародних наукових баз даних.

Правила для авторів складені відповідно до «Єдиних вимог до рукописів, що подаються у біомедичні журнали» (Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals), які сформульовані Міжнародним комітетом редакторів медичних журналів (International Committee of Medical Journal Editors) та містяться на ресурсі ICMJE.org.

ЖУРНАЛ СТРУКТУРОВАНО ЗА 5 ОСНОВНИМИ РОЗДІЛАМИ:

1. Точка зору
2. Проблеми організації та економіки нефрологічної допомоги
3. Оригінальні наукові роботи
4. Школа нефролога
5. Редакційна інформація, інформація про наукові форуми, коментарі, рецензії, знаменні дати.

Перший розділ. В цьому розділі друкуються статті, які відображають точку зору на конкретну проблему автора чи авторів.

Другий розділ висвітлює можливі шляхи покращення організаційної складової діяльності нефрологічної служби в Україні на всіх етапах надання спеціалізовані медичної допомоги та її економічний аналіз.

У третьому розділі розміщуються статті, які знайомлять з результатами оригінальних досліджень.

Розділ “Школа нефролога” друкує роботи, метою яких є підвищення нефрологічної грамотності читачів.

Останній розділ інформує про основні науково-практичні події, публікує рецензії, редакційну інформацію і т.п.

Рукопис разом з дозволом на його використання направляється до редакції тільки в електронному варіанті через он-лайн систему, яка міститься на сайті журналу. У редакції здійснюється двостороннє сліпе (анонімність рецензента та автора) наукове рецензування і літературне редагування статей.

Дозвіл на використання рукопису можна завантажити за посиланням

Статті, оформлені без додержання правил не приймаються, авторам не повертаються.

У разі негативної наукової рецензії, статті не публікуються, авторам ел. поштою надсилається відгук з можливістю доопрацювання статті чи заміни її іншим матеріалом.

До публікації приймаються оригінальні роботи, огляди літератури, лекції, короткі повідомлення, рекомендації практичним лікарям, опис випадків з практики, інформація про наукові форуми.

Редакція не приймає раніше опубліковані роботи або статті, прийняті до друку в інших виданнях.

Статті публікуються українською, російською та англійською мовами. Файл зі статтею представляти у форматі Microsoft Word (розширення *.doc, *.docx, *.rtf).

ПОСЛІДОВНІСТЬ РОЗМІЩЕННЯ МАТЕРІАЛУ НАСТУПНА:

1. Ініціали та прізвища авторів англійською мовою;
2. Назва статті англійською мовою;
3. Назва установи та організації, в якій працюють автори англійською мовою;
4. Резюме статті англійською мовою;
5. Ключові слова (8-10 слів чи словосполучень, що розкривають зміст статті) англійською мовою;
6. УДК;
7. Ініціали та прізвища авторів мовою, якою написана стаття;
8. Назва статті (мовою оригіналу);
9. Назва установи та організації, в якій працюють автори, місто (мовою статті);
10. Ключові слова (8-10 слів чи словосполучень, що розкривають зміст статті) мовою статті;
11. Резюме мовою статті;
12. Текст статті;
13. Розкриття потенційних конфліктів інтересів;
14. Інформація про внесок кожного учасника;
15. Список використаних джерел під назвою «Література (References)», оформлений відповідно до стандарту Vancouver style;
16. Відомості про відповідального автора: ПІБ, наукове звання, посада та місце роботи; e-mail (обов'язково) та робочий телефон.

Формат тексту рукопису. Текст статті друкуються шрифтом Times New Roman, розмір 14 pt, з полуторним міжрядковим інтервалом. Відступи з кожного боку сторінки 2 см. На всі ілюстрації, графіки і таблиці мають бути посилання в тексті.

Виділення в тексті можна робити курсивом або напівжирним шрифтом, НЕ підкресленням. З тексту слід видалити всі перенесення, повторювані пропуски, зайві розриви рядків (в автоматичному режимі через сервіс Microsoft Word “знайти і замінити”).

Файл з текстом статті містить всю інформацію для публікації, у тому числі рисунки і таблиці після їх першого згадування.

Структура рукопису має відповідати наведеному шаблону (залежно від типу роботи).

УДК розміщується у верхньому лівому куті.

Автори. Прізвище авторів вказувати після ініціалів (**О. С. Іванов, С. І. Петров**), жирним шрифтом, мовою оригіналу та англійською мовою, вирівнювання за центром. ПІБ авторів англійською необхідно вказувати відповідно з закордонним паспортом, або як в раніше опублікованих зарубіжних журнальних статтях. Авторі, які публікуються вперше і не мають закордонного паспорта, мають скористатися стандартом транслітерації КМУ—2010.

Багато додати посилання на власні офіційні інтернет сторінки автора(ів) (<https://.....>), Scopus ID, Researcher ID або ORCID ID для розміщення гіперпосилання на сайті журналу та pdf-версії статті.

Назва статті англійською мовою та мовою оригіналу розміщується за центром після прізвищ авторів жирним шрифтом («**Оцінка резидуальної функції нирок у хворих на ХХН VД СТ. та підходи до її збереження**»). Англійська назва має бути грамотною з точки зору англійської мови та повністю відповідати україно/російськомовній назві за змістом.

Установа. Необхідно наводити офіційну повну назву установи (без скорочень). Після назви установи через кому зазначити назву міста та країни. Якщо у дослідженні брали участь автори з різних установ, слід співвіднести назви установ і прізвища авторів за допомогою цифрових індексів у верхньому реєстрі. Під назвою необхідно додати інтернет адресу (<https://.....>) офіційної сторінки установи.

Реферат (якщо робота оригінальна) має бути структурованим: мета, матеріали і методи, результати, висновки. Реферат має повністю відповідати змісту роботи, **обсяг тексту не менше 1 800 знаків** (з пропусками). Резюме до публікацій, що подаються в інші розділи журналу (1,2,4,5) оформляється довільно, але з таким самим обсягом.

Англійська версія резюме статті за змістом і структурою (Aim, Methods, Results, Conclusions) повністю відповідає україно/російськомовній.

Ключові слова. Необхідно вказати ключові слова — від 3 до 10 для індексування статті в пошукових системах. Ключові слова повністю відповідають українською/російською та англійською мовою. Для вибору ключових слів англійською використовують тезаурус Національної медичної бібліотеки США (Medical Subject Headings — MeSH).

Текст статті (українською або російською мовою) структурований за розділами: вступ (актуальність), мета, матеріали і методи, результати, обговорення, висновки.

Розділ «Обговорення» є обов'язковим та має включати 3000–3500 знаків без пробілів.

Розкриття потенційних конфліктів інтересів

Автори повинні розкривати всі відносини або інтереси, які можуть мати прямий або потенційний вплив чи надати упередженість в роботі. Хоча автор, можливо, не відчуває, що існує який-небудь конфлікт, розкриття відносин і інтересів забезпечує більш повний і прозорий

процес, що призводить до точної і об'єктивної оцінки роботи.

Усвідомлення реального або передбачуваного конфлікту інтересів - це перспектива, на яку мають право читачі. Це не означає, що фінансові відносини з організацією, яка спонсорувала дослідження або компенсацію, отриману за консультаційну роботу є недоречними.

Приклади потенційних конфліктів інтересів, які прямо або побічно пов'язані з дослідженням, можуть включати, але не обмежуються наступним:

- Наукові гранти від фінансових агентств (прохання надати дані про спонсора дослідження та номер гранту)
- Гонорари за виступи на симпозиумах
- Фінансова підтримка участі в симпозиумах
- Фінансова підтримка освітніх програм
- Зайнятість або консультації
- Підтримка з боку спонсора проекту
- Посада в консультативній раді або раді директорів або в інших відносинах управління
- Кілька філій
- Фінансові відносини, наприклад, пайову участь або інвестиційний інтерес
- Права інтелектуальної власності (наприклад, патенти, авторські права і роялті від таких прав)
- Утримання чоловіка і / або дітей, які можуть мати фінансовий інтерес до роботи

Крім того, слід розкривати інтереси, що виходять за рамки фінансових інтересів і компенсації (нефінансові інтереси), які можуть бути важливі для читачів. Вони можуть включати, але не обмежуються, особисті відносини або конкуруючі інтереси, прямо або побічно пов'язані з цим дослідженням, або професійні інтереси або особисті переконання, які можуть вплинути на ваше дослідження.

Відповідальний автор збирає форми розкриття конфлікту інтересів від усіх авторів. В авторській співпраці, де допускаються формальні угоди про представництво, для відповідного учасника досить підписати форму розкриття від імені всіх авторів.

Приклади розкриття інформації

Дослідження фінансувалося X (грант № X).

Конфлікт інтересів: автор А отримав дослідні гранти від компанії А. Автор В отримав гонорар доповідача від компанії X і володіє акціями в компанії Y. Автор С є членом комітету Z.

Конфлікт інтересів: автори заявляють, що у них немає конфлікту інтересів.

Подяка. Авторі можуть висловити подяку особам та організаціям, що сприяли публікації статті, але не є її авторами.

Інформація про внесок кожного учасника (і осіб, зазначених у розділі “подяка”).

Приклад: О.С. Іванов - концепція та дизайн дослідження, І.П. Петров - аналіз отриманих даних, оформлення тексту роботи.

Автори висловлюють подяку (Прізвище І. Б.) за оформлення ілюстрацій.

Список літератури. У бібліографії (пристатейному списку літератури) кожне джерело зазначають з ново-

го рядка під порядковим номером. Вимоги до оформлення літературних джерел за Vancouver style детально представлено на сайті журналу. **Після кожного джерела ОБОВ'ЯЗКОВИМ є додавання його інтернет адреси** (<https://ukrjnd.com.ua/index.php/journal/article/view/22>).

Перед відправкою автори мають здійснити **самоперевірку тексту наукової статті** на:

1. **Плагіат.** Україно та російськомовні тексти статті перевіряють на плагіат за допомогою програми eTXT Антиплагіат <https://www.etxt.ru/antiplagiat>, що є необхідною умовою для передачі статті для подальшого рецензування. Рівень індивідуальності дослідження має бути не нижчий 80%.
2. Науковий стиль викладення матеріалу.
3. Тавтологію – повторювання у тексті.
4. Універсальність викладення матеріалу (читабельність). Текст статті має легко та просто сприйматися, не бути переобтяженим аббревіатурами, спеціальною вузькопрофільною термінологією або такою, що не набула міжнародної адаптації. Речення мають бути простими, лаконічними і нести завершений зміст.
5. Кількість посилань на статті та наукові матеріали з ідентифікатором DOI (не менше 80 %).
6. Відповідність вимогам видання.

ПОМИЛКИ, ЩО НАЙЧАСТІШЕ ВИНΙΚЮТЬ У ПОДАНИХ РУКОПИСАХ:

1. Використовують у реченнях «зайві» слова і вирази. Усього зайвого треба уникати. Керуйтеся правилом: «Якщо слово з речення можна викинути і при цьому зміст не втрачено – слово треба викинути». Це саме стосується і більших за обсягом фрагментів тексту.
2. Не вірно вказують одиниці виміру. Системні одиниці виміру системи СІ наводять без крапки (м, г, га, моль), а нестандартизовані одиниці – за скороченнями.

3. Треба розрізняти символи «—», «-» та «-». Перший із них у рукописах не використовують.
4. Більшість редакторських правок обумовлені невірним вживанням слів «в», «у», «і», «та», «з», «із», «зі».
5. У статтях не використовують вирази «на протязі» – заміняємо «протягом», «найбільш потужний» – «найпотужніший», «при» – «у разі» і т. п.
6. Зайве використання слова «було». Треба уникати слова «було»: без нього, зазвичай, зміст речення не зміниться.
7. Скорочення наукових термінів у статті треба звести до мінімуму.
8. Назви таблиць і рисунків (та примітки до них) повинні бути «вичерпними». Читач не повинен додатково перечитувати «Матеріал і методи досліджень» або назву роботи, щоб розібратися у змісті таблиці чи рисунка.
9. Статті найчастіше відхиляються редколегією через відсутність статистичного опрацювання первинних даних (загальні вимоги до фахових публікацій).
10. Не рекомендовано вживати в тексті пасивний залог: «проби відбиралися», замість цього – «проби відбирали»; «дослідження здійснювалися» – «дослідження здійснили».
11. Якщо виникають питання щодо оформлення чи представлення певних даних у статті – можна брати зразок останнього номеру журналу.
12. Відсутня можливість редагування рисунків, таблиці, формул, наведених у роботі. Необхідно надати редакції змогу їх редагувати, тобто не використовувати нестандартні програми.

Статті, оформлені без додержання правил не приймаються, авторам не повертаються.

У разі негативної наукової рецензії, статті не публікуються, авторам ел. поштою надсилається відгук з можливістю доопрацювання статті чи заміни її іншим матеріалом.

ПОВІДОМЛЕННЯ

До відома головних координаторів регіональних реєстрів
(керівникам регіональних осередків Національного ниркового фонду України) та всіх бажаючих стати членами фонду.

До 25.12.2018 р. просимо здійснити перереєстрацію членів Національного ниркового фонду України.

Членство у Національному нирковому фонді України надасть Вам змогу безкоштовно друкувати статті в «Українському журналі нефрології та діалізу» і отримувати його протягом року, мати 50% знижку при оплаті реєстраційних внесків на будь-які заходи, що проводитимуться у 2018 році за участю фонду.

Реквізити Фонду:

ЗАТ КБ «Приват Банк» філія «Розрахунковий центр»

Р/р № 26000060402072

МФО 320649

Єдрпоу 26476541

Добровільні членські внески (**300 грн.**) просимо перерахувати на рахунок фонду. Крім цього одночасно надайте списки членів регіональних філій Фонду, вказавши П.І.Б. та домашню адресу (обов'язково вказати поштовий індекс) і контактний телефон до відділу науково-організаційної роботи:

Адреса:

04050, м. Київ, вул. Дегтярівська 17-В.

Національний нирковий фонд України

Контакти:

Зав. відділу науково-організаційної роботи

Козлюк Надія Іванівна E-mail: org-metod@inephrology.kiev.ua)

Кравченко Лариса Василівна (044) 225-93-77;

тел/факс (044) 225-93-87